

**ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE**

**FAKULTA
STROJNÍ**



**BAKALÁŘSKÁ
PRÁCE**

2019

**ANEŽKA
VIMROVÁ**

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Vimrová** Jméno: **Anežka** Osobní číslo: **459146**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávající katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**
Studijní program: **Teoretický základ strojního inženýrství**
Studijní obor: **bez oboru**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Vliv kryogenního skladování na mechanické vlastnosti cévních štěpů při kvazistatickém zatěžování.

Název bakalářské práce anglicky:

Effect of cryogenic storage on mechanical properties of vascular grafts during quasi-static loading

Pokyny pro vypracování:

Seznámit se s technikami a principy skladování biologických vzorků (orgánů) určených k pozdější transplantaci.
Seznámit se s principy testování cév a teorií vaskulární mechaniky.
Provést experimentální zkoušky cévních štěpů s následným zpracování získaných dat (tlakové záznamy, analýza obrazu video extenzometrů, rychlost deformace, ...).
Analyzovat vliv skladování a rychlosti rozmrazení cévních štěpů na jejich mechanické vlastnosti.

Seznam doporučené literatury:

Veselý, J. - Horný, L. - Chlup, H. - Adámek, T. - Krajíček, M. - et al.: Constitutive modeling of human saphenous veins at overloading pressures. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2015, vol. 45, p. 101-108. ISSN 1751-6161.
Spacek, M.; Měřicka, P.; Janoušek, L.; Štádler, P.; Adamec, M.; et al.: Current vascular allograft procurement, cryopreservation and transplantation techniques in the Czech Republic. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 2019, 28. 10.17219/acem/90037.
Špaček, M., Měřicka, P., Janoušek, L., Štádler, P., Adamec, M., Vlachovský, R., ... Lindner, J. (2018). Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic. Cell and Tissue Banking, 19(3), 437-445. <https://doi.org/10.1007/s10561-018-9691-4>

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) bakalářské práce:

Ing. Hynek Chlup, Ph.D., ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky FS

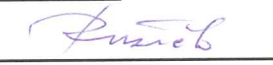
Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **25.04.2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16.08.2019**

Platnost zadání bakalářské práce:


Ing. Hynek Chlup, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce

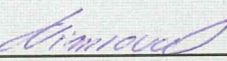

prof. Ing. Milan Růžicka, CSc.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry


prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Studentka bere na vědomí, že je povinna vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací.
Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

30.4.2019
Datum převzetí zadání


Podpis studentky

Anotace

Jméno autora:	Anežka Vimrová
Název bakalářské práce:	Vliv kryogenního skladování na mechanické vlastnosti cévních štěpů při kvazistatickém zatěžování
Anglický název:	Effect of cryogenic storage on mechanical properties of vascular grafts during quasi-static loading
Akademický rok:	2018/2019
Ústav:	U 12105 – Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky – Laboratoř kardiovaskulární biomechaniky
Vedoucí práce:	Ing. Hynek Chlup, Ph. D.
Bibliografické údaje:	počet stran: 47
	počet obrázků: 45
	počet tabulek: 8
	počet příloh: 5
Klíčová slova:	cévní štěp, kryogenní skladování, allograft, mechanické vlastnosti, inflační test
Keywords:	vascular graft, cryogenic storage, allograft, mechanical properties, inflation test

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá vlastnostmi kryogenně skladovaných cévních štěpů veny sapheny magny. Je zde analyzován vliv kryogenního skladování a rychlosti rozmražení cévních štěpů na mechanické vlastnosti cévní stěny.

Abstract

This bachelor thesis deals with properties of cryopreserved vascular grafts of vena saphena magna. The thesis is analysing effect of cryogenic storage and speed of thawing on mechanical properties of blood vessels.

„Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně za použití uvedených pramenů a literatury. Práce nebyla použita k získání jiného ani stejného titulu.“

Datum

.....

Anežka Vimrová

Poděkování

Za pomoc při tvorbě této práce, cenné rady, trpělivost a odborné vedení děkuji zejména panu Ing. Hynkovi Chlupovi, Ph.D.

Za pomoc děkuji školiteli specialistovi panu MUDr. Miroslavu Špačkovi, Ph.D., který mimo jiné poskytl i jednu z prvních konzultací.

Za podporu a pomoc během mého studia dále děkuji svojí rodině a přátelům.

Obsah

1. Seznam zkratek a symbolů	5
2. Úvod	7
3. Cíle práce.....	8
4. Odběr a skladování biologických tkání.....	9
4.1. Uchovávání biologických tkání.....	9
4.2. Techniky a principy skladování cév	9
5. Stavba cévní stěny	10
6. Mechanické vlastnosti cév	14
7. Matematické modely	16
7.1. Základní modely cévní stěny.....	17
7.2. Výpočet napjatosti ve stěně tubulárního vzorku	17
8. Testované vzorky	20
9. Provedení experimentu	22
10. Výsledky	26
10.1. Analýza geometrie vzorků.....	27
10.2. Vliv cyklování na mechanickou odezvu cévy	28
10.3. Vliv rychlosti rozmrazování na mechanickou odezvu cévy	32
11. Diskuze	34
12. Závěr	39
Literatura	41
Seznam obrázků	43
Seznam tabulek.....	45

1. Seznam zkratek a symbolů

Zkratka

ANOVA

HGO

ROI

SEF

VSM

Význam

Analysis of variance

Holzapfel-Gassen-Ogden

Region of interest

Strain energy function

Vena saphena magna

Značka

Jednotka

Název

$A_{1,2,3}$

[kPa]

materiálová konstanta v SEF

β

[rad]

úhel preferovaného směru

c

[kPa]

materiálová konstanta v SEF

C

[kPa]

parametr v HGO

$d\alpha_{1,2}$

[°]

úhel zakřivení nekonečně malého elementu

dF

[N]

elementární síla působící na nekonečně malý element skořepiny

dk

[mm]

délka hrany nekonečně malého elementu skořepiny ohraničená 2 rovnoběžkami

dm

[mm]

délka hrany nekonečně malého elementu skořepiny ohraničená 2 meridiány

e

[1]

Eulerovo číslo

$E_{1,2}$

[1]

deformace

H

[mm]

tloušťka stěny

H_S

[mm]

střední hodnota tloušťky stěny vzorku

$I_{1,4}$

první a čtvrtý invariant Cauchyova-Green tenzoru

k_1

[kPa]

parametr s jednotkami napětí v HGO

k_1

[1]

bezrozměrný parametr v HGO

n

[/]

normála

p

[kPa]

vnitřní tlak

P

[1]

parametr pravděpodobnosti

Q

[N]

síla působící na konec skořepiny

$R_{1,2}$

[mm]

poloměr křivosti nádoby

R_{m1}

[N/mm²]

mez pevnosti v axiálním směru

R_{m2}

[N/mm²]

mez pevnosti v obvodovém směru

R_S

[mm]

střední hodnota poloměru vzorku

W

[kPa]

hustota deformační energie

ε

[1]

poměrné prodloužení cévy

ε_A

[1]

poměrné prodloužení vzorků v axiálním směru

ε_C	[1]	poměrné prodloužení vzorků v obvodovém směru
ε_r	[1]	poměrné prodloužení v radiálním směru
ε_t	[1]	poměrné prodloužení v obvodovém směru
ε_z	[1]	poměrné prodloužení axiálním směru
$\lambda_{1,2}$	[1]	střech
λ_R	[1]	střech v radiálním směru
λ_C	[1]	střech v obvodovém směru
λ_A	[1]	střech v axiálním směru
σ	[kPa]	napětí ve stěně cévy
σ_1	[kPa]	napětí ve směru meridiánu
σ_2	[kPa]	napětí ve směru rovnoběžky
σ_A	[kPa]	napětí ve vzorku ve směru axiální
σ_C	[kPa]	napětí ve vzorku ve směru obvodovém
σ_H	[mm]	směrodatná odchylka tloušťky stěny vzorku
σ_R	[mm]	směrodatná odchylka poloměru vzorku

2. Úvod

Kardiovaskulární onemocnění je hlavní příčinou úmrtí v Evropě a ročně na ně zemřou 4 miliony lidí. Onemocnění cévního systému jsou jednou z nejčastějších příčin hospitalizace na území ČR.[24]

Mezi nejčastěji vyskytující se kardiovaskulární onemocnění patří ateroskleróza v různých místech. Samotná nemoc spočívá v ukládání lipidů (především cholesterolu) do cévní stěny. Ta potom ztrácí svoji pružnost a rovněž se zmenšuje její průsvit, vzniká stenóza. Ateroskleróza se může vyskytnout např. jako ischemická choroba mozku, dolních končetin či srdce. Infarkt myokardu je jedním z fatálních příznaků ischemické choroby srdce. Další nemocí postihující oběhový systém je arteriální hypertenze (vysoký krevní tlak), dále pak varixy (křečové žíly), aneurysmata a vaskulitida.

V ranném stádiu aterosklerózy a dalších onemocnění se nejdříve využívá konzervativní léčba – podávání farmak. Podávají se léky na snížení srážlivosti krve – *antikoagulancia*. Ty působí na lepší průtok krve zúženým profilem cévy. Tyto léky však nejsou dlouhodobým řešením – cévy se mohou ucpat úplně. V tu chvíli přichází na řadu kardiochirurgie – intervenční léčba. První cestou je balónková angioplastika. Ta využívá tzv. balónkový katetr. Jedná se o malý balóněk, na kterém je navlečen stent. Celý katetr se nejdříve zavede do místa stenózy, kde následně dojde k expanzi balónku či stentu. Tím dojde ke zprůchodnění průtočného průřezu cévy. Alternativní možností je chirurgický přístup, kdy se postižené místo přemostí tzv. bypass, nebo se úsek zcela nahradí cévní protézou nebo štěpem.

Materiál pro cévní náhrady je ale nutné někde najít. Nejvhodnější možností je vlastní céva pacienta, autotransplantát. Nejčastěji se využívá céva *vena saphena magna* (VSM), nebo *vena saphena parva*. Bohužel v mnoha případech je onemocnění již v takové fázi, že jsou poškozeny cévy celého těla. V takové situaci se musí zvážit buď umělé cévní náhrady, či cévní štěpy od dárců. Ty jsou však velmi rizikové u cév malých průměrů, neboť je u nich velké riziko pozdějšího opětovného ucpání. U umělých cévních náhrad nehrozí opětovný rozvoj aterosklerózy, avšak pomalu se hojí; a vzhledem k tomu, že postrádají imunitní systém, hrozí u nich vznik zánětu. U cévních štěpů od dárců však existují jiná rizika. Pacient musí až do konce života užívat imunosupresiva. Tyto léky mohou mít i nežádoucí účinky, jako je vyšší riziko virových a mykotických onemocnění, hypertenze, hyperglykemie či nefrotoxicity.

Cévní štěpy od dárců, allografty, se dělí na dvě skupiny. Čerstvé štěpy „*freshgraft*“ a zamražené štěpy „*cryopreserved graft*“. Zatímco transplantace čerstvých štěpů má v ČR dlouhou historii, transplantace kryoprezervovaných cévních štěpů byla uvedena do klinické praxe až v roce 2011 [7]. Na čerstvé cévní štěpy existuje stejně jako na orgány čekací listina. Pro pacienty, u kterých si lékaři nemohou dovolit čekat, se využívají kryoprezervované cévní štěpy.

Tato práce se zabývá mechanickými vlastnostmi kryoprezervovaných štěpů. Porovnává mezi sebou 2 skupiny vzorků, přičemž každá z nich byla rozmrazena jinou rychlostí. Práce dále využívá již získaná data o mechanických vlastnostech nativních cév pro porovnání s rozmraženými štěpy.

3. Cíle práce

Cíle práce jsou:

- seznámit se s technikami a principy skladování biologických vzorků určených k transplantaci,
- seznámit se s metodami testování cév a teorií vaskulární biomechaniky,
- provést mechanické zkoušky cévních štěpů s následným vyhodnocením,
- analyzovat vliv skladování a rychlosti rozmražení na jejich mechanické vlastnosti.

4. Odběr a skladování biologických tkání

Odebírá se celá řada biologických tkání a orgánů. Např: srdce, játra, slinivka břišní, plíce, děloha, střeva, ledviny, kosti, oční rohovky, srdeční chlopně, cévy nebo kůže. Na základě lékařských vyšetření je vybírán nejvhodnější příjemce pro daný orgán.

4.1.Uchovávání biologických tkání

Uchovávání biologických tkání se může dělit podle doby uskladnění:

- a) dlouhodobé skladování,
- b) krátkodobé skladování – ihned po odběru se implantuje.

S dlouhodobým skladováním u orgánů a tkání je problém. Vzhledem k tomu, že se jedná o biologický materiál, začíná po vyjmutí z těla jeho degradace. Pokud bychom chtěli tento materiál dlouhodobě skladovat, znamenalo by to, že musíme výrazně zpomalit či zastavit proces degradace, např. zmražením. Samotné zmrazení problém není, ale u rozmrazování vznikají ledové nano krystaly. Ty poté mohou narušit vnitřní strukturu. [4]

U krátkodobého uchovávání se jedná především o transport orgánu od dárce k příjemci. Už při odběru je nutné dodržet předepsaný postup, aby nedošlo ke zbytečnému poškození tkáně. Nejprve musí dojít ke kanylaci velkých cév a přerušení přítoku okysličené krve do orgánu. Následně proběhne propláchnutí chladnými roztoky St.Thomas, Custodiol a Perfadex. St. Thomas je využíván pro koronární tepny, Custodiopl pro orgány dutiny břišní a Perfadex pro plíce. [9] U srdce je spotřeba oproti ledvinám nebo játrům zhruba třetinová. Nyní začíná studená ischemie, tj. doba od zchlazení studeným roztokem v těle dárce do obnovení oběhu v těle příjemce. Doba studené ischemie se liší u jednotlivých orgánů. U srdce jsou to 4 hodiny, u jater 12 h a u ledvin až 1 den. [5] Obecně ale platí, že čím rychleji dojde k obnovení oběhu, tím lépe. Orgán se následně z venku zchladí ledovou tříští. Po ochlazení se zabalí do trojbalu ze sterilních igelitových sáčků. Do prvního se uloží samotný orgán ve fyziologickém roztoku, jenž omezuje patofyziologické změny v orgánech. Pak se vloží do dalšího sáčku s ledovou tříští. A poslední vrstvu tvoří rovněž sterilní igelitový sáček. Následně je orgán uložen do nádoby a pak do kontejneru s ledovou tříští. [9]

Uchovávání v ledu (výše popsané) je jednou z možností krátkodobého uchovávání vzorků. Pro uchování ledvin lze ještě využít méně běžnou kontinuální perfuzní pumpu. Ta pracuje na principu mimotělního oběhu, kdy ledvinou protéká perfuzní roztok o teplotě 4–10 °C. Roztok se zároveň okysličuje. Tato metoda se využívá pro transport na velké vzdálenosti či u orgánů horší kvality. Je však velmi nákladná a v ČR se moc nevyužívá. [5]

4.2.Techniky a principy skladování cév

V ČR jsou cévní štěpy určené k transplantacím uchovávány ve tkáňové bance ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové. Kromě štěpů ze stehenních arterií se zde uchovávají i méně obvyklé vzorky, jako např. oblouk aorty, dolní dutá žíla nebo bifurkace karotidy (rozvětvení krkavice). [8]

Odběr cévních štěpů určených k transplantaci provádí cévní chirurg. Odběr je realizován při multiorgánovém odběru, kvůli zachování kvality *allograftů*. Pro odběr bifurkace aorty se využívá přístup skrz vnitřní kyčelní tepnu – *arteria iliaca interna*. Pro tento odběr je ideální, když jsou rozvětvené párové tepny, *arteria iliaca communis*, alespoň 10 cm dlouhé a boční větve alespoň 1 cm. Pro odběr cév na jedné straně se užívá vnější kyčelní tepny. Stehenní žíla, *vena saphena*, je odebírána v co největší délce. Díky spolupráci s tkáňovou bankou je čas studené ischemie krátký – řádově hodiny. [8]

Pro odběr se preferují dárce s krevní skupinou O^- . [8] Tato skupina je pro dárcovství nejvhodnější kvůli absenci Rheus (Rh) faktoru i chybějícím antigenům A a B. Tuto skupinu může přijmout kdokoli. Jedná se o univerzálního dárce.

Vzorky jsou po vyjmutí umístěny do chladného prezervačního roztoku a uzavřeny do plastových nádob. Tyto nádoby jsou zchlazené na teplotu tajícího ledu a transportovány do tkáňové banky v Hradci Králové. Zde vzorky projdou dekontaminací a následně jsou uloženy do sterilních sáčků s předchlazeným roztokem. Ten se skládá z jedné poloviny z 6% roztoku Hydroxyethyl starch a z druhé poloviny z 20% roztoku dimethylsulphoxidu. [8] [10]

Dalším krokem je proces kryoprezervace. Vzorek je umístěn do počítačem řízeného chladičového boxu. V první fázi je nastavena rychlost ochlazování na 1 K/min. Takto se pokračuje do $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ve druhé fázi se rychlost zvýší na 5 K/min až se dosáhne teploty $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$. [8] Vzorky jsou uchovávány ve speciálních kontejnerech KRYO-CE 10 v tekutém dusíku ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$). [11]

Pro použití k transplantacím se vydávají vzorky po splnění několika kritérií. Jedná se především o absenci jakýkoliv kontraindikací. Mezi nejdůležitější patří např. přítomnost infekce potvrzené po sérologických testech. Podmínkou je rovněž dobrá kvalita vzorku. [7]

Štěpy se musí před transplantací rozmrazit. Rozmrazení se provádí až na místě transplantace. Po transportu vzorku na operační sál jsou vyjmuty z přepravního boxu, ve kterém se převládá při teplotě kapalného dusíku. Balíčky se následně uloží do lednice, vychlazené na teplotu mezi $+2$ až $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zde jsou ponechány 2 hodiny. [8] Případné zbytkové krystalky ledu se rozpustí při pokojové teplotě. Po roztátí se štěpy ponechají v sáčcích s chladným konzervačním roztokem až do momentu transplantace.

5. Stavba cévní stěny

Cévní stěna je biologický kompozit s vrstevnatou strukturou, viz Obrázek 1. Každá vrstva má specifické vlastnosti.

Vnitřní vrstva (*tunica intima*)

Je to jednovrstevná membrána s nesmáčivým povrchem, jedná se tedy o *endotel-výstelku*. Tato vrstva je tvořena plochými endotelovými buňkami, které pomocí sekrece hormonů ovlivňují vlastnosti červených krvinek i hladkého svalstva v cévních stěnách. U dospělého člověka je tloušťka *tunica intima* cca $100\text{ }\mu\text{m}$. [1]

V této vrstvě lze rozpoznat tenkou vrstvu kolagenního vaziva – subendotelovou vrstvu. Rovněž pak také membránu *elastica interna*, která je tvořena elastickými kolagenními vlákny uspořádanými podélně (v axiálním směru). [12]

Střední vrstva (*tunica media*)

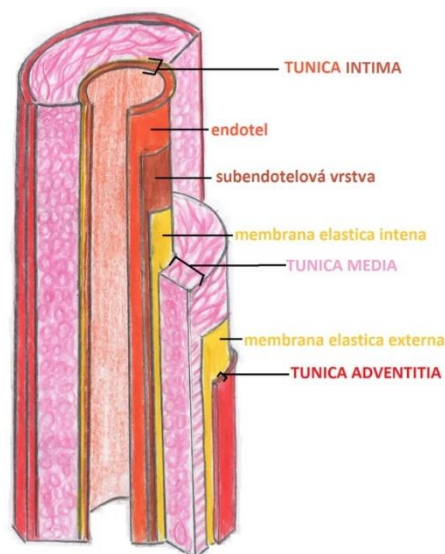
Tato vrstva je tvořena hladkou svalovinou, jejíž buňky jsou orientovány spirálovitě či kruhovitě do vláknových struktur. Úhel náklonu vláken je 30–50° vzhledem k podélné ose cévy. Jedná se tedy o pružinové uspořádání. Svalové buňky také produkují elastická vlákna vytvářející jemné síť. Těch bývá něco mezi 40–60. [1] Tato vrstva ovlivňuje velikost průsvitu cév a tím pádem reguluje průtok cévami. Rovněž dodává cévní stěně pružnost a pevnost. Většina tlaku, který vzniká při každém srdeční stahu, je pohlcena svalstvem, a to pak svým stahováním pohání krev dále do oběhového systému.

Na vnějším okraji *tunica media* se nachází vrstva ze silných podélných elastických vláken. Rovněž zde se mohou nacházet i spirálovitě uspořádané svazky kolagenních fibril.

Vnější vrstva (*tunica externa*)

Jedná se o tenkou pochvu z kolagenové vazivové tkáně. Vazivo uchycuje cévu do okolí. Je zde přítomno velké množství elastických vláken, která navyšují pružnost cévy. Ve vazivu také probíhá mnoho nervů, které řídí činnost hladké svaloviny. Nacházejí se zde rovněž cévy cévní stěny – *vasa vasorum*. Tyto cévy mají za úkol vyživovat vnější stěnu cév. [1][2][3][12]

Výše popsané vrstvy jsou u každé cévy jiné. Liší se tloušťkou jednotlivých úseků, některé vrstvy mohou také zcela chybět. Záleží na tom, zda se jedná o tepnu či žílu a také jak daleko od srdce se nacházíme.



Obrázek 1: Stavba stěny arterie svalového typu [12]

Tepny

Jedná se o cévy vedoucí od srdce. Většinou vedou okysličenou krev do periferních oblastí. Výjimkou jsou plicní tepny *arteriae pulmonales*, které vedou odkysličenou krev od srdce do plic. Tepny ve fyziologickém stavu jsou předeptané. Tlak v tepnách se snižuje se vzdáleností od srdce. Systolický tlak u zdravého jedince se pohybuje mezi 90–119 mmHg, diastolický potom mezi 60–79 mmHg. [15] Tepny můžeme označit jako vysokotlakou část krevního oběhu. Podle umístění tepen a podle složení jejich stěn můžeme rozdělit tepny do 3 základních kategorií:

Tepénky

Tepny s průsvitem kolem 100 μm. [1] Jedná se o nejmenší tepny v těle. Ve svojí stěně mají především vlákna hladké svaloviny, což jim umožňuje regulovat svůj průsvit a tím pádem i průtok krve. Tyto tepny se dále větví na vlásečnice, ve kterých probíhá látková výměna mezi krví a buňkami. Střední rychlost proudění krve dosahuje hodnoty 0,2–0,3 cm/s a střední tlak 35–70 mmHg [23].

Tepny malého a středního průměru

Můžeme je rovněž označit jako tepny svalového typu. Patří sem především tepny periferní. Např. tepny končetin, na horní končetině vřetenní tepna, *arteria radialis*, a na dolní končetině tepna stehenní, *arteria femoralis*. U této velikosti cév je nejtlustší *tunica media*.

Průsvity se u svalových tepen velmi liší. Záleží na pozici cév v krevním řečišti. Čím dále je tepna od srdce tím bude menší její průsvit. Rovněž bude záviset na tom, zda daný jedinec trpí na tvorbu trombů či nikoli. U zdravého člověka můžeme uvést alespoň přibližné hodnoty vnějších průměrů. U párových tepen jsou uvedené hodnoty levé větve, viz Tabulka 1. Střední rychlost proudění se u tohoto typu tepen pohybuje od 2–10 cm/s. Střední tlak od 70 do 95 mmHg. [23]

Obratlová tepna – <i>Arteria vertebralis</i>	3,85 mm
Stehenní tepna – <i>Arteria femoralis</i>	5,09 mm
Společná kyčelní tepna – <i>Arteria iliaca communis</i>	8,05 mm

Tabulka 1: Vnější průměry u vybraných tepen [1]

Tepny velkého průměru

Někdy rovněž nazývané tepny elastického typu. Nacházejí se pouze v těsné blízkosti srdce. Jejich stěna je poměrně tenká vzhledem k jejich průsvitu. Mají za úkol především převést pulsní proudění krve ze srdce na kontinuální. V *tunica media* je obsaženo velké množství elastických vláken. Tyto se při systole roztáhnou a tím pádem pohltí část tlakové vlny způsobené stažením komor. Při diastole se naopak stáhnou do původní polohy, tím vytváří tlak krve i při relaxaci komor. [13]

Největší tepnou lidského těla je srdečnice, *aorta*. Ta vychází přímo ze srdce jako *aorta ascendens*. Její vnější průměr může dosáhnout až 30 mm. [1] Po oblouku srdečnice *arcus aortae* se tento průměr zmenší cca o jednu třetinu až čtvrtinu. [12] Střední tlak v aortě dosahuje hodnoty 100 mmHg a střední rychlost proudění 20 cm/s [23].

Žíly

Jako žíly označujeme cévy vedoucí do srdce. Na rozdíl od tepen vedou většinou krev částečně zbavenou kyslíku. Výjimku tvoří 4 plicní žíly, *vena pulmonales*, které vedou okysličenou krev z plic do srdce. Kapacita žilního systému je větší než u tepen, proto tepny slouží jako zásobárna krve. Tato krev se využívá jako počáteční posílení svalových buněk při svalové práci. Při proudění krve v žilách se pohybuje vnitřní tlak mezi 5–20 *mmHg* [14]. Na rozdíl od tepen bývá systém žil označován jako nízkotlaký. U žil blízko srdce může vznikat vlivem diastoly i podtlak.

Kromě rozdílného směru proudění se žíly liší výživou. U tepen se *tunica intima* a *tunica media* vyživují pomocí difuze z proudící krve. U žil musí vzhledem k nízkému množství živin zasahovat *vasa vasorum* až do *tunica intima*. [1]

Dalším rozdílem je tloušťka stěny. Ta je u tepny stejného vnějšího průměru větší než u žíly. Velmi odlišná je *tunica media*, zatímco u tepen se zde nachází velká vrstva hladké svaloviny, u žil tomu tak není, viz Obrázek 2. Je zde více kolagenních a elastických vláken, ale méně hladké svaloviny. U žil dutiny břišní můžeme pozorovat velmi silnou *tunica adventitia*. Oproti tepnám se ve stěně nachází méně nervových zakončení. Mnoho periferních žil obsahuje chlopně. Ty jsou tvořené *tunica intima* a vyztužené vazivem. Tyto poloměsíčité chlopně umožňují průtok krve pouze v jednom směru. Tím umožňují proudění krve proti zemské gravitaci. Při patologických stavech za nimi mohou vznikat kapsy, ve kterých se drží krev. Tento jev označujeme jako křečové žíly. [1] [12][14]

Žilky

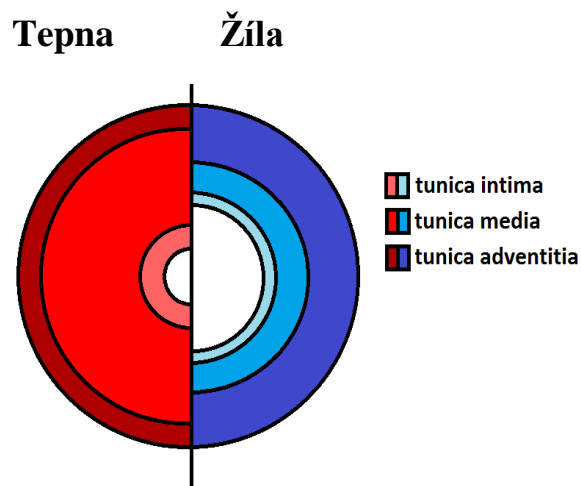
Jsou pokračováním kapilár. Jedná se o žíly s průměrem od 0,2 *mm* do 1 *mm*. [1] Tento průměr je ale variabilní. Střední rychlost proudění se pohybuje okolo 0,03-1 *cm/s* a střední hodnota tlaku klesá od 15 do 10 *mmHg* [23]

Žíly malého a středního průměru

Žíly u končetin obsahují poloměsíčité chlopně. Mezi ně řadíme hlavně hluboké žíly. Např. žíly předloktí, orgánů, bérce, hlavy a vnitřních orgánů. Jejich průměr se pohybuje od 5 do 10 *mm*. Střední rychlost dosahuje hodnoty kolem 5-10 *cm/s*. Střední tlak klesá od 10 do 0 *mmHg*. [23] Při nasávání krve během diastoly může klesnout i do záporných hodnot a v žíle nastane podtlak. Tlak v žilách končetin je ovlivněn gravitací a také vzdáleností od srdce. V dolních končetinách je tlak závislý i na výšce člověka. Při stání mají vyšší lidé vyšší krevní tlak v dolních končetinách.

Žíly velkého průměru

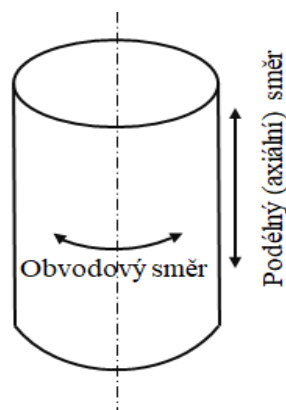
Jedná se hlavně o dolní a horní dutou žílu, *vena cava superior* a *inferior*. [1] Pro duté žíly se průřez pohybuje od 30 do 35 *mm*. Střední rychlost proudění dosahuje hodnot od 10-16 *cm/s* a střední tlak je 0 a méně [23]



Obrázek 2: Srovnání tloušťky jednotlivých vrstev stěny u artérie a vény [12] Upraveno

6. Mechanické vlastnosti cév

Tepenné stěny v lidském těle jsou předepjaté v axiálním i obvodovém směru. Při předepjetí v obvodovém směru je stěna na vnitřním průměru předepjatá tlakem a na vnějším tahem. Deformace na vnitřním obvodu se po roztažení tepny během pulsu přemění na zbytkovou deformaci. Toto je velmi výhodné pro konstrukci tepen, neboť tím dochází k oddálení vzniku napětového píku a stěna tepny je lépe využita. Vnitřek tepny by byl bez této napjatosti přetížen. Z tohoto důvodu je i mez pevnosti R_m u vnitřní vrstvy stěny většinou cca 1,5krát vyšší než u vnější. [1] Obrázek 3 znázorňuje souřadný systém cévy.

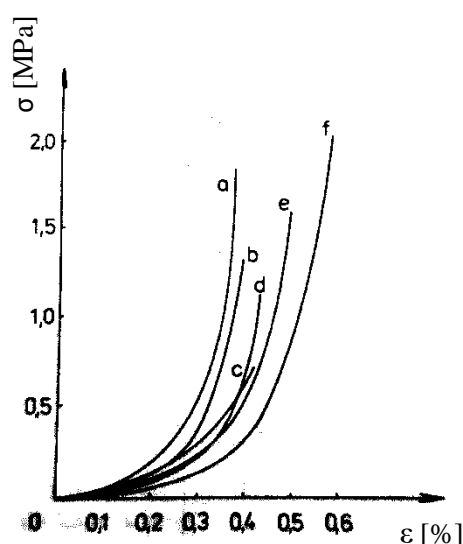


Obrázek 3: Schéma cévy s vyobrazeným souřadným systémem

Podélné deformace jsou u nativních tepen menší než obvodové. Po vyjmutí tepny při pitvě dochází k jejímu zkrácení. Určení přesné hodnoty je složité, neboť stupeň zkrácení vyjmutých tepen po pitvě je u každé tepny jiný.

U aorty se uvádí, že při počátečním stavu napjatosti je deformace stěny asi 70 %. V obvodovém směru kolísá deformace ± 3 % a v axiálním 1 %. [1] U předpětí v axiálním směru platí, že čím více hladké svaloviny obsahuje stěna tepny, tím je předpětí větší. U tepen s větším poměrem elastických vláken je deformace menší než u tepen svalového typu. [4]

Výše je uvedeno, že různé druhy tepen se deformují různě, v důsledku jiného složení jejich stěny. Z toho plynou i rozdílné mechanické vlastnosti, které budou záviset na umístění cévy, resp. její vzdálenosti od srdce. U břišní aorty se procentuální prodloužení v axiálním směru pohybuje okolo 148 % u hrudní pak 145 %. U stehenní a společné krční tepny je to 124 %. [1] Na grafu, viz Obrázek 4, je uvedena závislost deformace na napětí u různých tepen při jednoosé takové zkoušce, osa byla v podélném směru. [4]



Obrázek 4: Závislost napětí – deformace pro tepny při jednoosé tlakové zkoušce [1]
a-tepna kyčelní; b-tepna stehenní; c, d-zadní a přední část břišní aorty; e, f-vnitřní, resp. společná krční tepna [1]Upraveno

Většina biologických materiálů je anizotropní. Mechanická odezva cév závisí na směru zatěžování. Cévy se jako tubulární vzorky testují ve dvou na sebe navzájem kolmých směrech. Mez pevnosti v obvodovém směru je vyšší než mez pevnosti v axiálním směru, viz Tabulka 2. Toto platí i pro žíly i pro tepny. [4]

Věk [roky]	$R_{m1} \cdot 10^{-4}$ [MPa]	$R_{m2} \cdot 10^{-4}$ [MPa]
11–20	413,7±19,2	463,2±35,8
21–30	220,6±11,5	307,0±16,7
31–40	155,0±12,6	175,7±18,7
41–50	102,6±8,2	131,7±8,5
51–60	78,7±14,3	121,3±14,4
61–70	78,8±10,8	92,7±7,0
70+	-	87,9±6,9

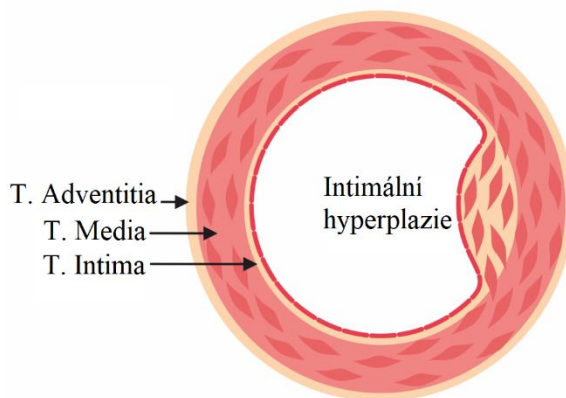
Tabulka 2: Meze pevnosti kyčelní tepny v axiálním směru R_{m1} a obvodovém směru R_{m2} pro různé věkové kategorie. [1]

Tabulka 2 říká, že pevnost tepen klesá s rostoucím věkem, a to jak v obvodovém, tak v podélném směru. Věková skupina 11–20 let dosahuje nejvyšších hodnot pro mez

pevnosti v obou směrech. O skupině 21–30 let můžeme tvrdit, že zde došlo k velmi výraznému poklesu. U R_{m1} skoro o 50 % a u R_{m2} o 35 %. R_{m2} se zmenšuje u skupiny 31–40 let o 40 % oproti skupině 21–30 let. Poté R_{m1} i R_{m2} klesají postupně vždy cca o 30 %. [1] Vliv na tuhost cévní stěny má poměr mezi elastickými a kolagenními vlákny. Čím více se bude ve stěně vyskytovat kolagenních vláken, tím bude tužší, a naopak s elastickými vlákny. S věkem roste poměr kolagenních vláken, a proto jsou stěny s věkem méně odolné vůči deformacím.

Podle *Jarovaja* existují tři etapy ve vývoji žil. První období mezi 18 až 20 lety: této době se rozvíjí hladká svalovina. Druhé období od 20 do 40 let, ve kterém je stavba žil beze změny. Jisté změny se objevují ve třetím období po cca 40 letech. [1] Závislost změn na věku není tak patrná jako u tepen. Mechanické vlastnosti žil se v průběhu života mění méně.

Po transplantaci se ovšem žíly musí přizpůsobit novým podmínkám. V tepnách je vyšší tlak a krev neproudí kontinuálně. Okamžitě po vstupu do cévního štěpu se stěna žíly začíná adaptovat. Dojde ke změně průměru a mění se složení stěny implantované žíly. Dochází k několika nebezpečným vedlejším efektům. Při transplantaci je logicky stěha narušena cévní stěna. Na porušení reaguje céva intimální hyperplazií. To je jev, při kterém dochází ke ztlustění *tunica intima*, viz Obrázek 5. Příčinou tohoto ztlustění je migrace buněk hladké svaloviny z *tunica media*. Tyto buňky napomáhají vhojování, protože vytvářejí extracelulární matrix. Vzniká *neo-intima*. Problémem tohoto procesu je však zúžení průsvitu cévy. Dalším rizikovým faktorem je potom možný vznik trombů. Velmi rizikové jsou potom transplantace u cév s úzkým průsvitem (např. koronární), které jsou náchylné k ucpání.[16][17]



Obrázek 5: Intimální hyperplazie [17]

7. Matematické modely

Protože u testovaných cév je obtížné změřit přímo napětí, je nutné použít pro výpočet matematické modely. Ty využívají údaje, které se dají změřit snáze. V našem případě se jedná o axiální a obvodové deformace vyhodnocené získané pomocí videoextenzometrů. Modelů a teorií jak spočítat požadované napětí je celá řada. Vzhledem k tomu, že práce se matematickým modelováním přímo nezabývá, je uveden pouze krátký přehled matematických modelů.

7.1. Základní modely cévní stěny

SEF (Strain Energy Function). Model vytvořil americký bioinženýr Yuan-Cheng Fung. Jedná se o model pro měkké biologické tkáně. Je určen pro hyperelastické materiály. Hustota deformační energie W a síla Q se vyjádří

$$W = \left(\frac{c}{2}\right) (e^Q - 1) \quad Q = A_1(E_1)^2 + A_2(E_2)^2 + 2A_3E_1E_2 \quad (1)$$

kde c a $A_{1,2,3}$ označují materiálové konstanty. $E_{1,2}$ potom označují deformace. $E_{1,2}$ lze spočítat podle (2)

$$E_1 = [(\lambda_1)^2 - 1] \quad E_2 = [(\lambda_2)^2 - 1] \quad (2)$$

písmena $\lambda_{1,2}$ označují poměrné prodloužení neboli stretch. [18]

HGO (Holzapfel-Gasser-Ogden). Jedná se o nelineární anizotropní model. Tento model je na rozdíl od SEF doplněn o směrové konstanty materiálu. Tzn. že bere v potaz i anizotropii materiálu. Používá se pro hyperelastické materiály. Podle tohoto modelu lze vyjádřit hustotu deformační energie W dle vztahu (3)

$$W = \frac{C}{2} (I_1 - 3) + \frac{k_1}{k_2} (e^{k_2(I_4 - 1)^2} - 1) \quad (3)$$

kde C a k_1 jsou parametry s jednotkami napětí a k_2 je bezrozměrný parametr. I_1 je první invariant pravého Cauchyova-Green tenzoru a I_4 je čtvrtý invariant objevující se díky anizotropii materiálu. I_1 a I_4 definujeme podle vztahů (4) a (5)

$$I_1 = \lambda_R^2 + \lambda_C^2 + \lambda_Z^2 \quad (4)$$

$$I_4 = \lambda_C^2 \cos^2 \beta + \lambda_A^2 \sin^2 \beta \quad (5)$$

β představuje preferovaný směr uvnitř materiálu, měří se od podélné geometrické osy cévy. Řecké písmeno λ značí stretch. Index A je pro axiální směr, C pro obvodový a r pro radiální. [16]

7.2. Výpočet napjatosti ve stěně tubulárního vzorku

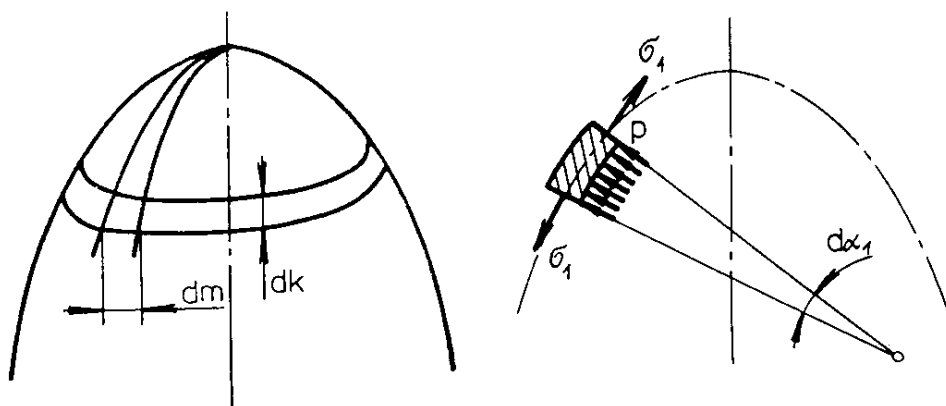
Výpočet napjatosti v tubulárních vzorcích je možné provést buď podle teorie tenkostěnných-skořepin, nebo tlustostěnných nádob. Za skořepinu považujeme součást, jejíž jeden rozměr-tloušťka, je podstatně menší než zbývající dva rozměry. [6] Vzhledem k tomu, že u námi zkoumaných cév je tloušťka stěny přibližně desetkrát menší než průměr, viz Tabulka 3, můžeme využít skořepinový model. Tento model bude sloužit pro

porovnání vzorků mezi sebou. Proto odchylky vzniklé zjednodušením výsledky moc neovlivní. Tento přístup byl uplatněn i ve zdrojích [19][20]

Pro výpočet skořepiny je nutné definovat tzv. membránový stav. V [6] jsou uvedeny 4 podmínky nutné pro udržení membránového stavu:

1. Velikost spojitého zatížení stěny skořepiny se nesmí měnit náhle.
2. Tloušťka stěny skořepiny se nesmí měnit náhle.
3. Vnější síly působící na skořepinu (včetně reakcí v uložení) musí mít směr tečný k povrchu skořepiny.
4. Poloměry křivosti a poloha středu křivosti se nesmí měnit náhle.

Pro odvození výpočtu si z membrány vyjmeme nekonečně malý element. Tento element ohraničují křivky dvou meridiánů a dvou rovnoběžek, viz Obrázek 6. Na tento element působí zatížení p , napětí ve směru meridiánu σ_1 a napětí ve směru rovnoběžek σ_2 .



Obrázek 6: Nekonečně malý element vyjmutý z membrány. [6]

Vlevo: zobrazení ohraničení elementu meridiány a rovnoběžkami, vpravo: element v rovině meridiánu

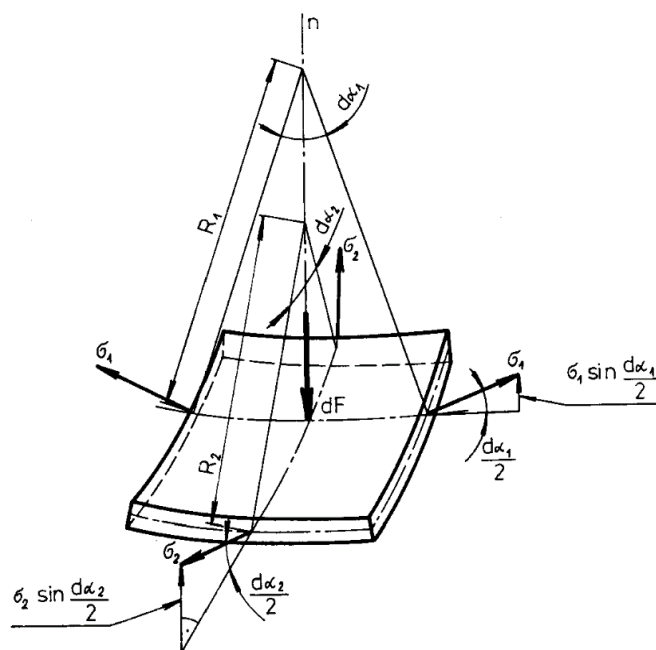
Pro sestavení rovnice rovnováhy vyňatého elementu použijeme schéma s vyobrazenými silovými účinky, viz Obrázek 7.

Nejprve tedy napíšeme rovnici rovnováhy pro směr normály n . Pro napětí σ_1 a σ_2 musíme vzít úvahu jejich sinové/cosinové složky. Označíme tloušťku stěny jako H .

$$2 \cdot \sigma_1 \cdot \sin \frac{d\alpha_1}{2} dm \cdot H + 2 \cdot \sigma_2 \sin \frac{d\alpha_2}{2} dk \cdot H - dF = 0 \quad (6)$$

Element je nekonečně malý, a proto můžeme považovat i úhel α za nekonečně malý. Pro takovéto úhly platí předpoklady

$$\sin \frac{d\alpha_1}{2} \approx \frac{d\alpha_1}{2} \quad a \quad \sin \frac{d\alpha_2}{2} \approx \frac{d\alpha_2}{2} \quad (7)$$



Obrázek 7: Silové účinky působící na vyjmutý element [6]

Dále platí

$$dm = R_2 \cdot d\alpha_2 \quad a \quad dk = R_1 \cdot d\alpha_1 \quad (8)$$

$$dF = p \cdot dm \cdot dk = p \cdot R_2 \cdot d\alpha_2 \cdot R_1 \cdot d\alpha_1 \quad (9)$$

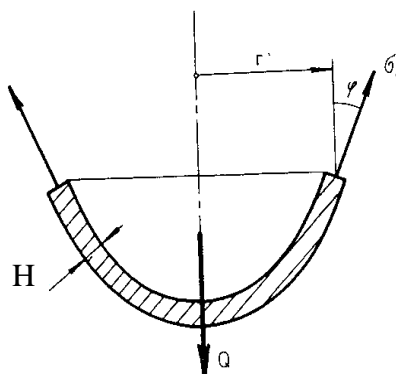
Po úpravách dostáváme rovnici (10), jedná se o Laplaceovu rovnici.

$$\frac{\sigma_1}{R_1} + \frac{\sigma_2}{R_2} = \frac{p}{H} \quad (10)$$

Pro počítání napjatosti v cévách uvažujeme poloměr $R_1 = \infty$. Po vyjádření z (10) dostáváme

$$\sigma_2 = \sigma_\tau = \frac{p \cdot R_2}{H} \quad (11)$$

kde σ_τ je tečné napětí působící ve směru tečném k rovnoběžkám. Tlak uvnitř značíme p .



Obrázek 8: Koncová část skořepiny [6] Upraveno

K výpočtu napětí σ_1 působícího ve směru tečném k meridiánům budeme potřebovat část skořepin, viz Obrázek 8. Na tuto část působí i výsledná síla Q . Složkovou rovnici rovnováhy si napíšeme do svislého směru

$$\sigma_1 \cdot \cos \varphi \cdot 2 \cdot \pi \cdot r \cdot H - Q = 0 \quad (12)$$

$$\sigma_1 = \frac{Q}{2 \cdot \pi \cdot r \cdot H \cdot \cos \varphi} \quad (13)$$

Rovnice (10) a (13) tvoří soustavu dvou rovnic o 2 neznámých napětích σ_1 a σ_2 .

8. Testované vzorky

Jako vzorky byly použity kryoprezervované cévní štěpy z cévní banky v Hradci Králové. Vzorky pocházely z VSM od různých dárců, byly otestovány vždy do 48 hodin od rozmražení.

Do laboratoře bylo dodáno celkem 12 vzorků, 6 z nich bylo rozmraženo tradičním způsobem, tj 120 min (viz. kap. 4.2), a 6 bylo rozmraženo rychleji, tj. 5 minut. Z každého vzorku byly vytknuty 2 kusy určené pro měření. Celkem tedy bylo testováno 24 vzorků, viz Tabulka 3.

Pro potřeby dalších výpočtů byly vytknuty celkem 3 kroužky z každého vzorku. Jeden na začátku, jeden na konci a jeden uprostřed, viz Obrázek 9. Na těchto kroužcích se provedlo měření obvodu a tloušťky stěny. Z výsledných hodnot pro obvod byl spočítán průměr, resp. poloměr vzorku. Střední hodnoty tloušťky stěny a poloměru se

Kód vzorku	Název vzorku	H_s [mm]	σ_H [mm]	Počet měření H	R_s [mm]	σ_R [mm]	Počet měření R	Věk dárce	Pohlaví dárce M=muž F=žena
VSM_1_CV_0633414	VSM_1R1 VSM_1R2	0,218	0,031	9	1,868	0,143	3	44	M
VSM_2_CV_0533114	VSM_2R1 VSM_2R2	0,221	0,057	9	1,771	0,054	3	18	M
VSM_8_CV_0262314	VSM_8R1 VSM_8R2	0,288	0,015	9	2,128	0,072	3	28	M
VSM_9_CV_0171814	VSM_9R1 VSM_9R2	0,464	0,047	9	2,486	0,132	3	61	M
VSM_14_CV_0040316	VSM_14R1 VSM_14R2	0,346	0,064	12	1,901	0,244	4	52	M
VSM_15_CV_0523114	VSM_15R1 VSM_15R2	0,303	0,046	12	2,045	0,243	4	18	M
VSM_3_CV_0201914	VSM_3S1 VSM_3S2	0,335	0,062	9	1,979	0,189	3	21	F
VSM_4_CV_0181814	VSM_4S1 VSM_4S2	0,459	0,097	9	2,227	0,194	3	51	M
VSM_10_CV_0212014	VSM_10S1 VSM_10S2	0,285	0,059	9	1,989	0,158	3	47	M
VSM_11_CV_0543114	VSM_11S1 VSM_11S2	0,248	0,037	9	2,090	0,194	3	17	M
VSM_12_CV_0101414	VSM_12S1 VSM_12S2	0,258	0,040	9	1,925	0,102	3	41	F
VSM_13_CV_0030816	VSM_13S1 VSM_13S2	0,241	0,049	9	1,889	0,142	3	52	F

Tabulka 3: Základní geometrie, věk a pohlaví dárců

směrodatnými odchylkami jsou uvedeny v tabulce, viz Tabulka 3. U měření obvodu byly provedeny pouze 3–4 měření, směrodatná odchylka je uvedena pouze jako informativní a také proto, že byla využita ve sloupcovém grafu, viz Obrázek 24.

Kódové značení vzorků z cévní banky jsou uvedeny v prvním sloupci, viz Tabulka 3. Z důvodu zkrácení názvu byly pro účely experimentu vzorky označeny jinak. Nové značení bude vysvětleno na vzorku VSM_1R1 takto:

VSM *vena saphena magna*

1 číslo dárce

R/S rozmrazeno rychle (rapid)/ rozmrazeno pomalu (slow)

½ číslo vzorku od jednoho dárce

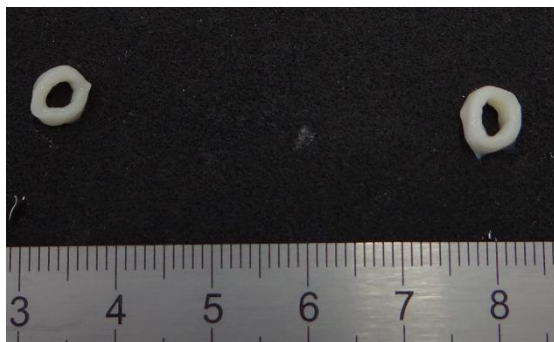
Průměrný věk dárce byl 37,5 let. Nicméně nejmladšímu dárci bylo 17 let a nejstaršímu 61 let. Z důvodu takto velkého rozptýlu by bylo vhodné si vzorky rozdělit do 3 skupin např. takto: 17–25 let, 25–40 let a 40–61 let, viz Tabulka 3. Práce se však zaměřuje na porovnání 2 skupin, a sice pomalu a rychle rozmražené, a dělit vzorky do takto malých podskupin, vzhledem k malému počtu vzorků, by nemělo význam. Mezi dárci převažují muži poměrem 3:1 vůči ženám.

Tloušťka stěny byla měřena pomocí mikrometru Mikrotess s přítlačnou silou 0,5 N. Měření tloušťky stěny bylo provedeno 3krát u jednoho vytknutého kroužku, na krajích a uprostřed. Tj. na jedné dodané cévě byla změřena tloušťka celkem 9krát, viz Tabulka 3. Měření obvodu proběhlo na každém kroužku jen jednou, proto na vzorek připadají 3 měření. K měření bylo použito posuvné měřítko Mahr.

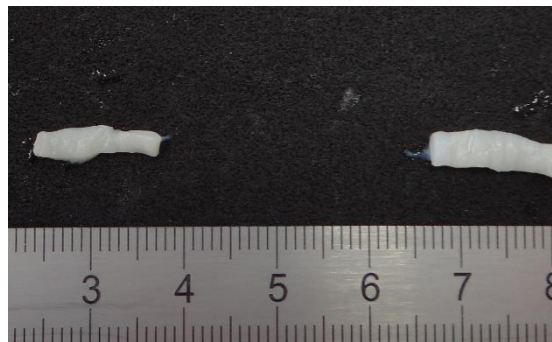
Každý vzorek bylo potřeba nejdříve očistit, tzn. odstranit okolní vazivovou a tukovou tkáň. Obrázek 9: ukazuje vypreparovanou cévu s vyznačenými místy řezu. Po vypreparování experimentálních vzorků a kroužků pro měření geometrie, byly kroužky vyfoceny, viz Obrázek 10, a rozříznuty, viz Obrázek 11, aby mohla být změřena tloušťka stěny a obvod.



Obrázek 9: Schematické vyznačení míst řezu na cévě



Obrázek 10: Vytknuté kroužky

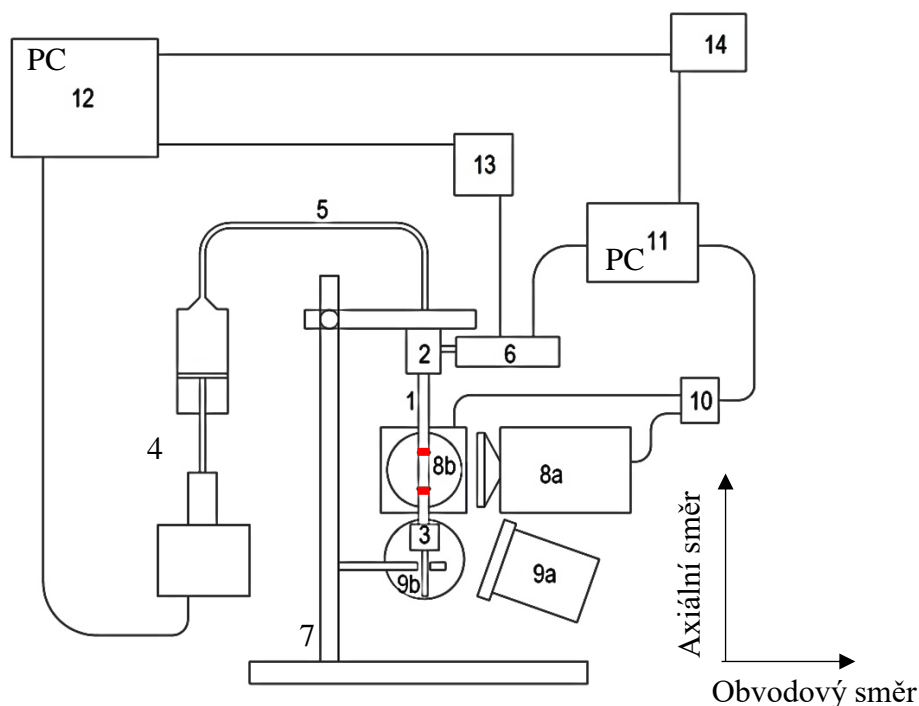


Obrázek 11: Rozvinuté kroužky

9. Provedení experimentu

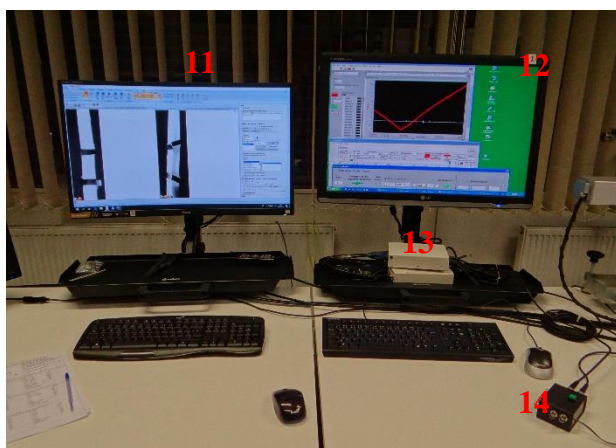
Na celkem 24 vzorcích byl proveden inflačně-extenzní test. Vzorky byly testovány při kvazistatickém zatěžování a bez axiálního předpětí. Jako tlaková kapalina byla použita voda. Schéma experimentu je znázorněno, viz Obrázek 12, a jeho reálná konfigurace, viz Obrázek 14 a Obrázek 13.

Každý vzorek byl cyklicky namáhán vnitřním tlakem minimálně 8 cyklů. Vyhodnocována byla zatěžující část 8. cyklu, viz Obrázek 21. Vzorky byly předcyklovány 7 cyklů, kdy docházelo k ustálení vnějších a vnitřních vazeb. U nativních cév se běžně předcyklovává 5–10 cyklů. [19][20]

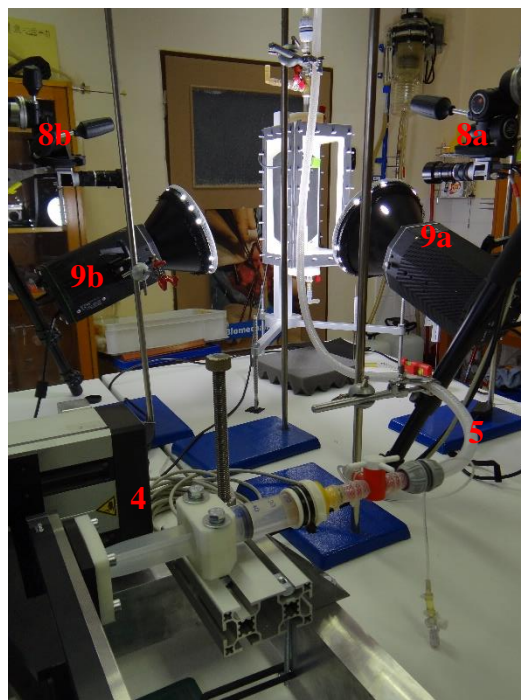


Obrázek 12: Schéma experimentu; vzorek s markery (1), horní trn – pevný (2), spodní trn – pohyblivý (3), pulsátor (4), trubice (5), senzor tlaku (6), stojan (7), videoextenzometry (kamery) (8a,b), světla (9a,b), synchrobox pro videoextenzometry (10), počítač pro řízení kamer (11), počítač pro řízení elektromotoru (12), sběrnice-A/D převodník (13), triggerovací tlačítko (14)

Vzorek (1) byl upnut mezi dva trny, horní nepohyblivý trn (2) a spodní pohyblivý trn (3). Tím bylo umožněno se vzorku protahovat v axiálním směru a volně se natáčet. Do vzorku byla za pomoci pulsátoru (4) tlakována kapalina – voda. Jako pulsátor byla použita sestava stříkačky o objemu 50 ml a elektromotoru, který zajišťoval posuv pístu. Pomocí řízení elektromotoru byla předepsána horní a dolní úvrať pístu pulsátoru. Rovněž byla předepsána rychlost posuvu pístu, v práci je považována za rychlost zatěžování. Rychlost posuvu byla nastavena na 0,1 mm/s. Tlak kapaliny snímá tlakový modul KTS firmy Cressto (6) s rozsahem 0–25 kPa. Modul je napojený na A/D převodník (13) National Instruments USB-6289 a na počítač pro řízení tlaku (12), pomocí kterého je nastavována frekvence snímání tlaku 600 Hz. Vzorek je snímán 2 kamerami na sebe navzájem kolmými, které slouží jako videoextenzometry (8 a, b). Tyto kamery jsou typu Basler acA-2500 s rozlišením 5 MPx. Kamery byly nastaveny počítačem (11), aby jejich snímací frekvence byla 10 Hz. Vzorek byl nasvícen světly Helios LED 200 (9 a, b). Synchronboxem (10) bylo zajištěno, že obě kamery začnou snímat ve stejný čas. Celý experiment byl zahájen triggerovacím tlačítkem (14).



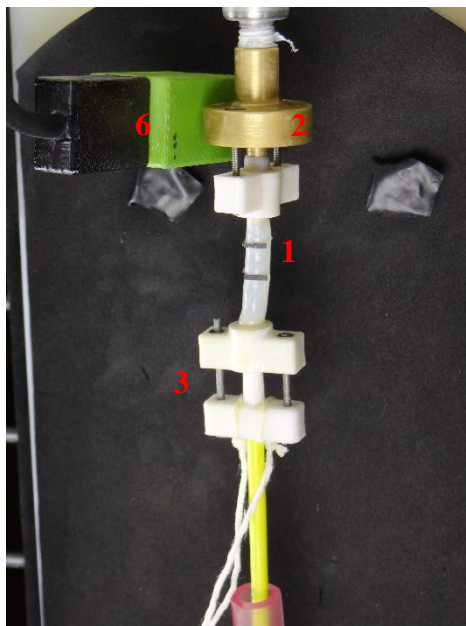
Obrázek 13: Reálné umístění PC na řízení elektromotoru a kamer; synchronbox pro videoextenzometry (10), PC pro řízení kamer (11), PC pro řízení elektromotoru (12), A/Dpřevodník (13), triggerovací tlačítko (14)



Obrázek 14: Uspořádání experimentu; pulsátor (4), hadice (5), elektromotor (7), videoextenzometry (8a,b), světla (9a,b)

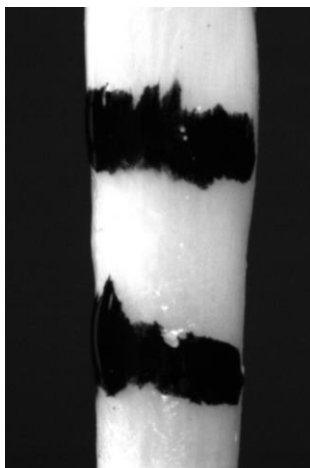
Pro měření byl přijat předpoklad, že vzorek se bude chovat jako válec. Ovšem biologické materiály se takto chovat nemusí. Toto může být způsobené rozdílnou tloušťkou stěny po obvodu či podélně. Z tohoto důvodu byly deformace vzorku snímány 2 kamerami uspořádanými kolmo na sebe viz. obr. 11. Výsledná obvodová a axiální deformace je získána po zprůměrování hodnot z obou videoextenzometrů. V obou rovinách byly na vzorek umístěny černé markery. Pro první vzorky byly použity klasické tekuté markery, ale u těch docházelo k velkému rozpíání, viz Obrázek 16 a Obrázek 17. Proto byly na další vzorky umístěny nalepené papírové markery, viz Obrázek 15. Rozpíání

markeru by mohlo být způsobeno narušením povrchové mikrovrstvy rozmražením či skladováním v prezervačním roztoku. Markery byly nalepeny bodově, aby nedocházelo k ovlivnění deformace vzorku v průběhu zatěžování. Za vzorkem bylo umístěno v obou rovinách snímání kamer kontrastní pozadí.

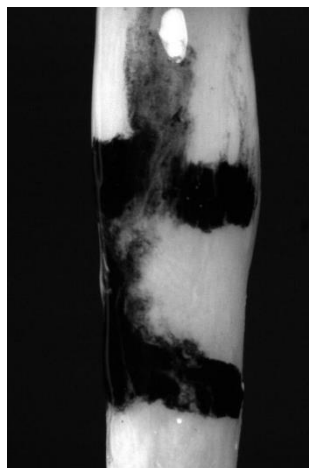


Obrázek 15: Upnutí vzorku s umístěním markerů; vzorek (1), horní trn – pevný (2), dolní trn – pohyblivý (3), snímač tlaku (6)

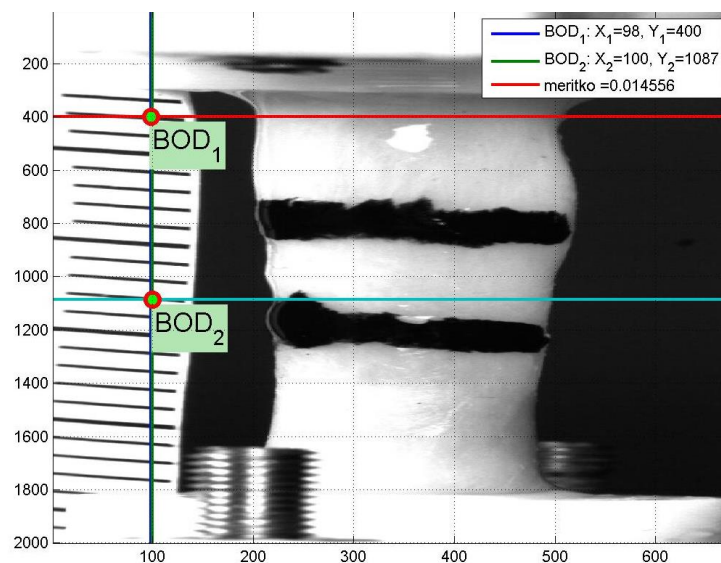
Aby bylo možné později vyhodnotit deformace vzorku, byl ještě před měřením pořízen referenční snímek. Na tomto snímku bylo vedle vzorku umístěno měřítko, viz Obrázek 18. Pomocí tohoto snímku byla provedena kalibrace cílové oblasti. Díky tomu bylo možné přepočítat posuvy z pixelů na milimetry.



Obrázek 16: Tekuté markery na počátku testování

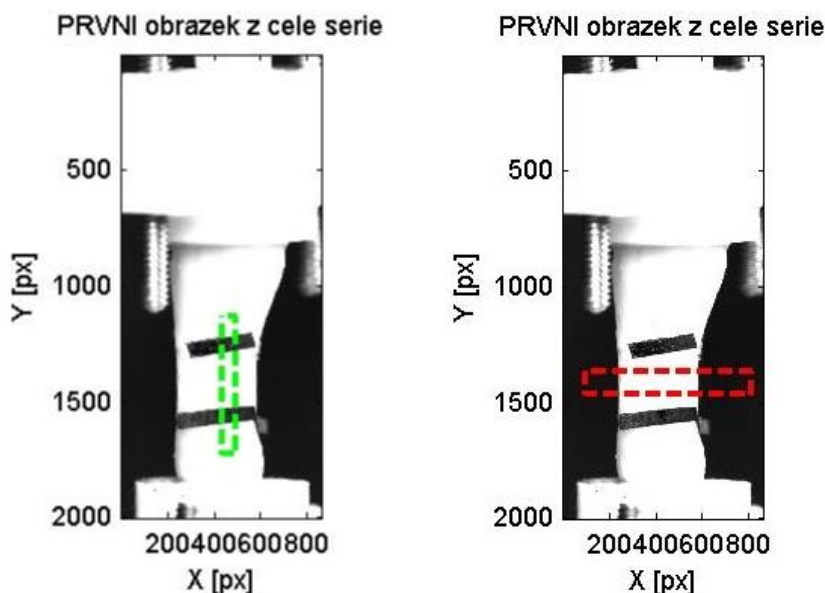


Obrázek 17: Tekuté markery na konci testování

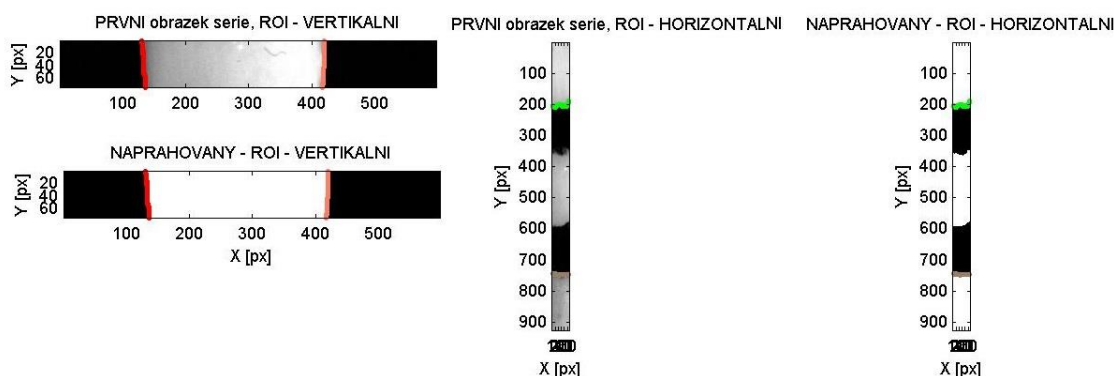


Obrázek 18: Referenční snímek s měřítkem

Výsledky se zpracovávaly pomocí programů v prostředí Matlab. Nejprve bylo nutné provést analýzu obrazu tak, abychom získali posuvy hran v průběhu deformace. K tomu sloužilo vyznačení oblastí zájmu (ROI – region of interest), viz Obrázek 19. V těchto ROI byly detekovány posuvy horizontálních a vertikálních hran pro výpočet axiální a obvodové deformace. ROI byly voleny zhruba uprostřed vzorku a zůstávaly po celou dobu zatěžování stejně velké. Vzorek byl cyklicky zatěžován vnitřním tlakem, viz Obrázek 21. Během jednoho měření bylo získáno asi 2000 snímků z každé kamery. Pro detekci hran byly snímky naprahovány na binární mapu, viz Obrázek 20.



Obrázek 19: Vzorek s vyznačenými ROI

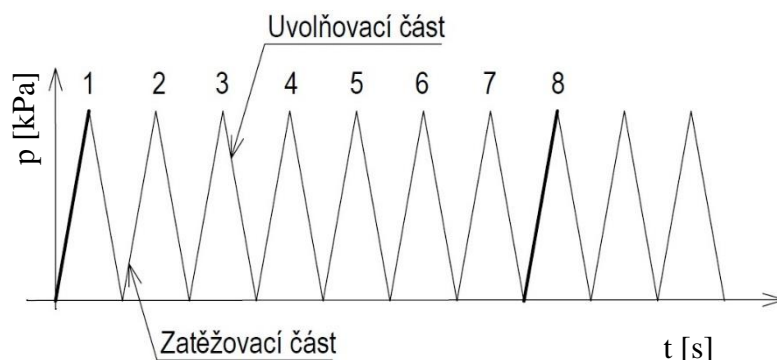


Obrázek 20: Vlevo: naprahování pro obvodový směr s detekovanými hranami – červené; Vpravo: naprahování pro axiální deformace s detekovanými hranami – zelené

Výstupem tohoto programu byl textový soubor, ve kterém byly pro každý snímek zaznamenány souřadnice bodů detekovaných hran pro axiální a obvodový směr. Souřadnice byly pro každý snímek zprůměrovány, tím byly získány pro jeden deformační stav hodnoty axiálních a horizontálních vzdáleností. Z těchto vzdáleností byly následně vypočteny hodnoty axiálních a obvodových deformací. Díky zprůměrování bylo dosaženo subpixelových deformací.

Vzhledem k tomu, že frekvence kamer a snímání tlaku byly odlišné, je nutné obrázky z kamer sfázovat s údaji z tlakového senzoru. K tomu byl využit další z programů vytvořených v rozhraní Matlab. Program využije signál z triggeru, aby přiřadil ke každému snímku správnou hodnotu tlaku. Dále vyřadí ty údaje tlaku, ke kterým chybí snímek.

V každém měření byly vybrány zatěžovací oblasti 2 cyklů – prvního a osmého, viz Obrázek 21. Se znalostí hodnot tlaku a deformací bylo možné získat závislosti napětí – deformace v axiálním a obvodovém směru, viz Obrázek 25-Obrázek 28 a Obrázek 31-Obrázek 34.



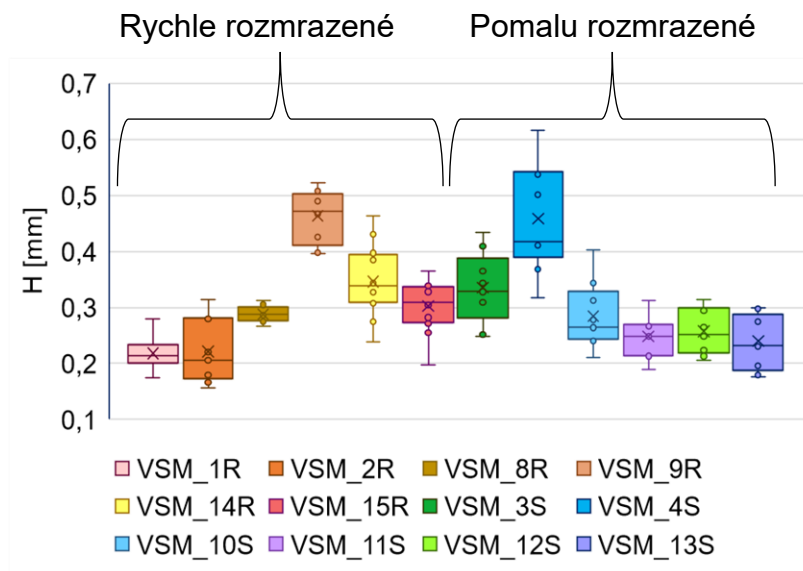
Obrázek 21: Schematické zobrazení cyklování

10. Výsledky

Mechanické vlastnosti testovaných vzorků jsou charakterizovány závislostí napětí – deformace. Dále byla provedena analýza rozměrů testovaných vzorků, která byla porovnána s hodnotami z literatury.

10.1. Analýza geometrie vzorků

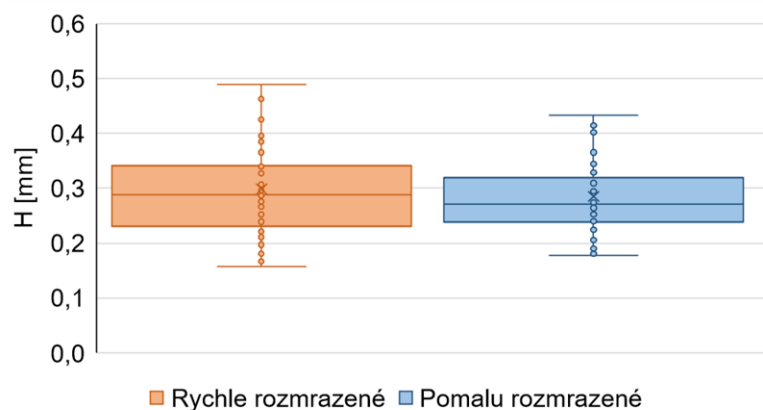
Metody měření geometrie vzorků jsou popsány v kapitole 8. Pomocí krabicového grafu jsou analyzovány tloušťky stěn pro všechny vzorky, viz Obrázek 22. Konkrétní hodnoty jsou uvedené v tabulce, viz Tabulka 4.



Obrázek 22: Tloušťky stěny jednotlivých vzorků

VSM_1R	VSM_2R	VSM_8R	VSM_9R	VSM_14R	VSM_15R	VSM_3S	VSM_4S	VSM_10S	VSM_11S	VSM_12S	VSM_13S
0,175	0,184	0,286	0,497	0,327	0,365	0,409	0,414	0,211	0,248	0,303	0,230
0,211	0,180	0,288	0,396	0,239	0,197	0,344	0,616	0,240	0,214	0,294	0,196
0,214	0,157	0,288	0,398	0,334	0,282	0,309	0,411	0,344	0,269	0,206	0,300
0,280	0,280	0,266	0,425	0,275	0,255	0,329	0,317	0,264	0,312	0,224	0,297
0,252	0,221	0,313	0,489	0,343	0,314	0,433	0,546	0,265	0,249	0,213	0,177
0,216	0,314	0,296	0,472	0,463	0,339	0,328	0,501	0,312	0,272	0,252	0,279
0,201	0,166	0,276	0,467	0,397	0,329	0,252	0,368	0,247	0,213	0,314	0,232
0,199	0,282	0,305	0,522	0,343	0,343	0,365	0,537	0,278	0,190	0,265	0,274
0,215	0,206	0,275	0,507	0,431	0,304	0,249	0,418	0,402	0,266	0,248	0,180
				0,307	0,304						
				0,384	0,328						
				0,313	0,271						

Tabulka 4: Hodnoty tloušťky stěny pro jednotlivé vzorky

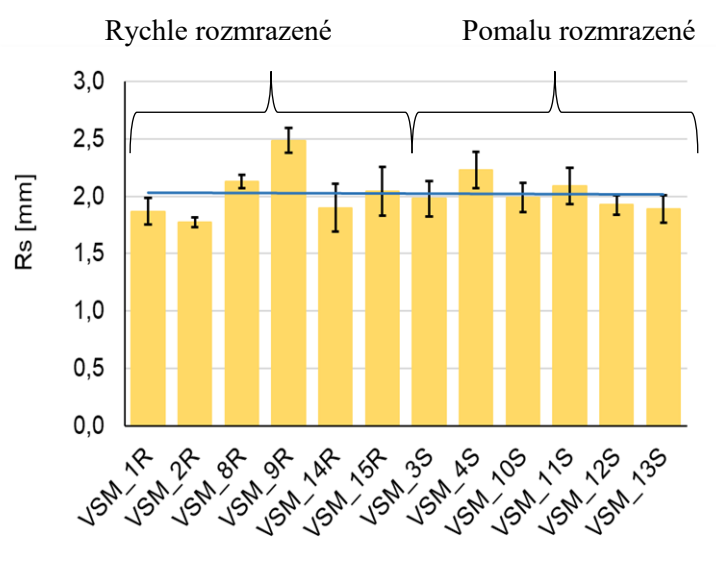


Obrázek 23: Porovnání tloušťky stěny pro pomalu a rychle rozmražené skupiny vzorků

Následně byly vzorky rozděleny do dvou skupin, dle rychlosti rozmrazování, pro porovnání. Výsledky jsou prezentovány na grafu, viz Obrázek 23.

Na grafu, viz Obrázek 23, vidíme, že tloušťky stěn pro jednotlivé skupiny se příliš neliší. Pro ověření byla provedena analýza rozptylu dat pomocí ANOVA: jeden faktor s hladinou významnosti $P=0,05$. Parametr pravděpodobnosti byl $P=0,36>0,05$, viz Tabulka 5, tzn. že tloušťka stěn se pro jednotlivé skupiny signifikantně neliší. Ověření bylo možné provést i pomocí T.TESTU, který porovnává střední hodnoty dvou skupin.

Ze středních hodnot poloměrů byl vyhotoven sloupcový graf, viz Obrázek 24. Směrodatné odchylky jsou uvedeny pouze jako doplňující informace z důvodu malého počtu měření. Graf je proložen přímkou, reprezentující střední hodnotu poloměru ze všech měření.



Obrázek 24: Střední hodnoty poloměrů a směrodatných odchylek jednotlivých vzorků

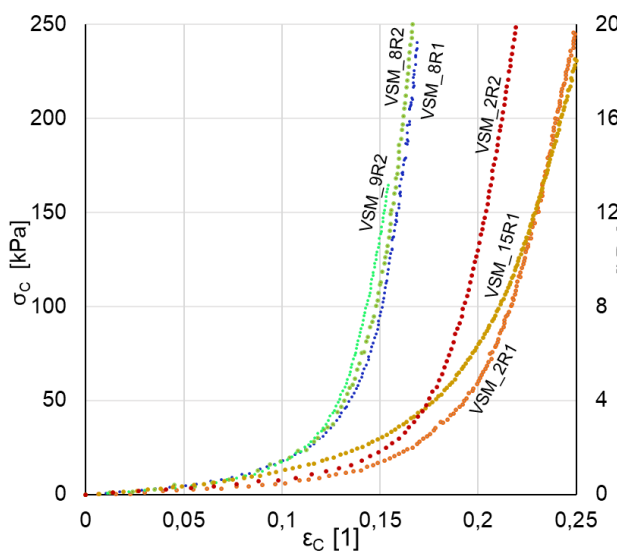
10.2. Vliv cyklování na mechanickou odezvu cévy

Vzorky byly předcyklovány 7 cyklů (viz kap. 9). Byl vyhodnocován první a osmý cyklus, neboť těmito dvěma cykly byl podroben každý vzorek. V grafech je uvedena vedlejší osa tlaku, která slouží pro lepší představu o zatížení vzorku. Jsou uvedeny pouze orientační hodnoty tlaku.

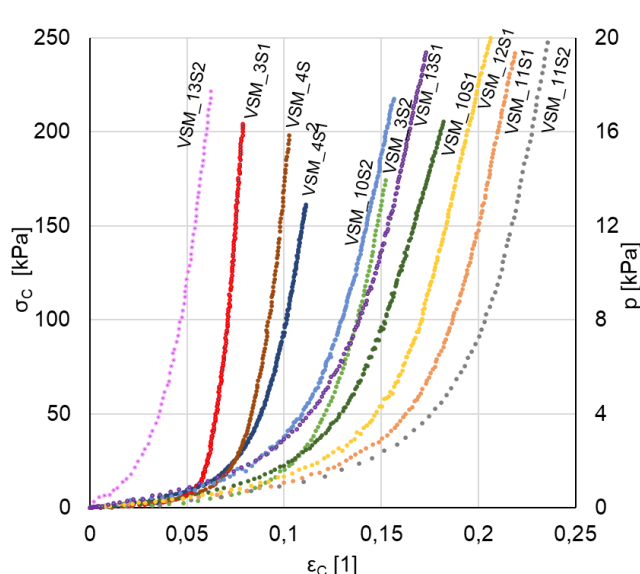
Závislost napětí – deformace v obvodovém směru pro první cyklus rychle a pomalu rozmražené skupiny byla zpracována do grafů, viz Obrázek 25 a Obrázek 26. Obvodová deformace u rychle rozmražené skupiny se pohybuje v intervalu, kde $\epsilon_c = \langle 0,15; 0,25 \rangle$, viz Obrázek 25. U pomalu rozmražených je rozptyl větší, $\epsilon_c = \langle 0,03; 0,25 \rangle$, viz Obrázek 26.

Obrázek 27 a Obrázek 28 reprezentují závislost napětí – deformace v obvodovém směru, ale tentokrát pro osmý cyklus. U rychle rozmražených vzorků se oblast deformace po předcyklování zvětšila, $\epsilon_c = \langle 0,8; 0,25 \rangle$, viz Obrázek 27. U pomalu rozmražených vzorků zůstává tato oblast obdobná jako u prvního cyklu, viz Obrázek 28. Když se

zaměříme na jednotlivé vzorky, všimneme si, že nelze obecně říct, zda se vlivem cyklování deformují více nebo méně. Při zatěžování bylo dosahováno napětí 200–250 kPa.

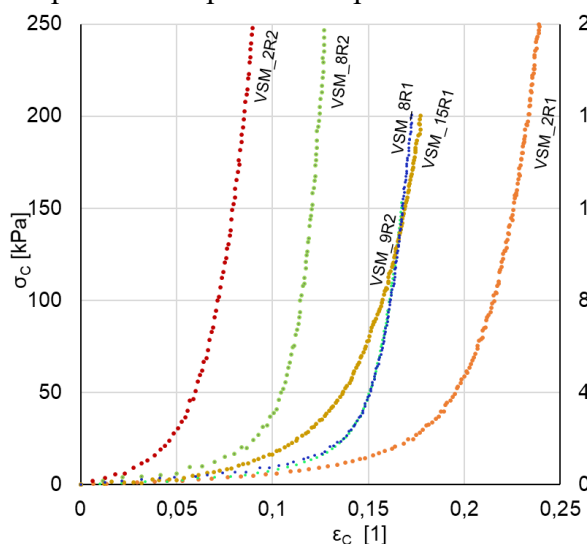


Obrázek 25: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u rychle rozmražených vzorků u prvního cyklu

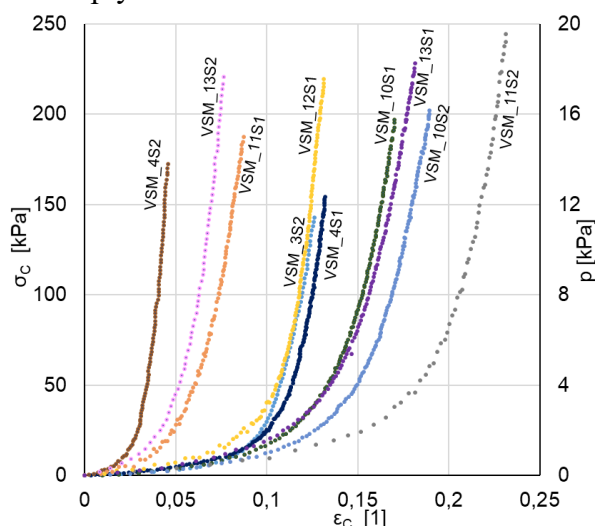


Obrázek 26: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u pomalu rozmražených vzorků u prvního cyklu

Ze získaných charakteristik mechanických charakteristik byly vytvořeny oblasti rozptylu těchto křivek, viz Obrázek 29, Obrázek 30, Obrázek 35 a Obrázek 36. V těchto oblastech je prezentována křivka reprezentativního vzorku. Křivka vybraného reprezentanta procházela přibližně středem oblasti rozptylu.



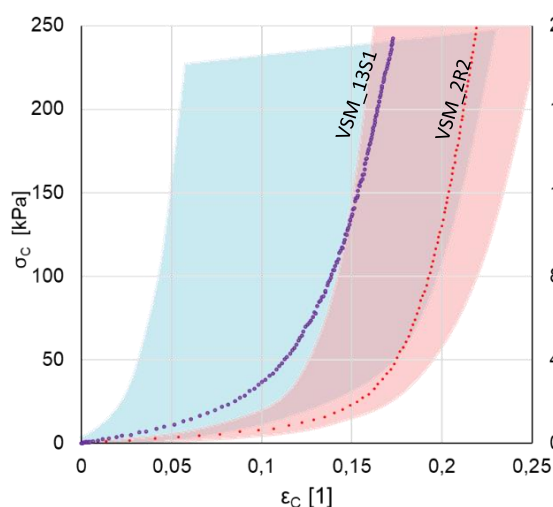
Obrázek 27: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u rychle rozmražených vzorků u osmého cyklu



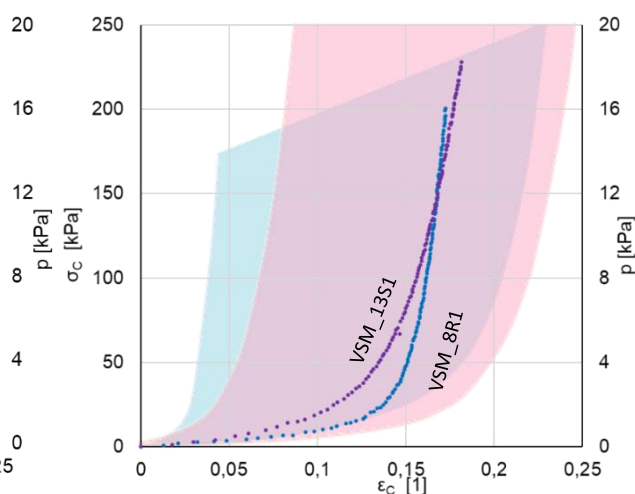
Obrázek 28: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u pomalu rozmražených vzorků u osmého cyklu

Na grafu, viz Obrázek 29, vidíme vybrané reprezentativní vzorky a oblasti pro první cyklus obvodové deformace. Pro rychle rozmražené byl vybrán vzorek VSM_2R2

a oblast deformace je vyznačena červeně. Pro pomalu rozmražené je reprezentantem VSM_13S1, oblast deformací označena modře. Vidíme, že se oblasti překrývají.



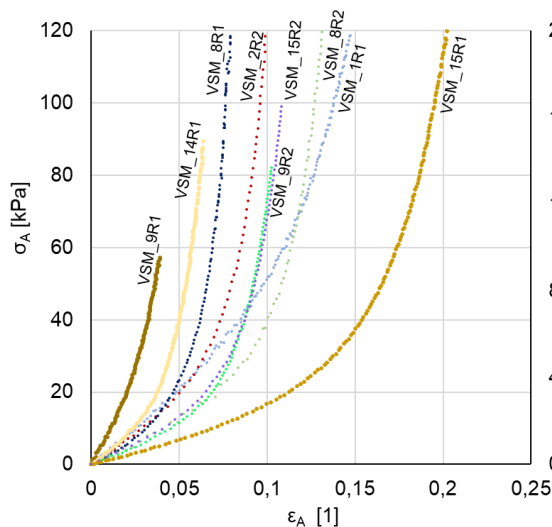
Obrázek 29: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_13S1 červeně: VSM_2R2, cyklus první



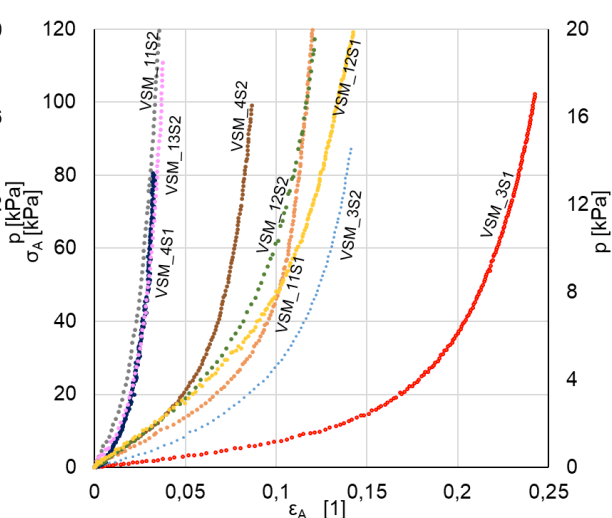
Obrázek 30: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_13S1 modře: VSM_8R1, cyklus osmý

Pro osmý cyklus obvodové deformace byl jako reprezentant pro rychle rozmražené vybrán VSM_8R1 a oblast rozptýlu vyznačena červeně, viz Obrázek 30. Pro pomalu rozmražené pak VSM_13S1 a oblast deformací vyznačena modře. Vidíme, že po cyklickém zatěžování se oblasti překrývají téměř úplně.

Obrázek 31 a Obrázek 32 prezentují graf závislosti napětí – deformace pro axiální směr u rychle a pomalu rozmražených vzorků u prvního cyklu. Rozptýl deformace u rychle rozmražené skupiny se pohybuje v intervalu $\epsilon_A = \langle 0,04; 0,2 \rangle$, viz Obrázek 31. Pro pomalu rozmraženou skupinu se interval je interval deformace $\epsilon_0 = \langle 0,02; 0,25 \rangle$, viz Obrázek 32. Dosahovalo se napětí do 120 kPa.

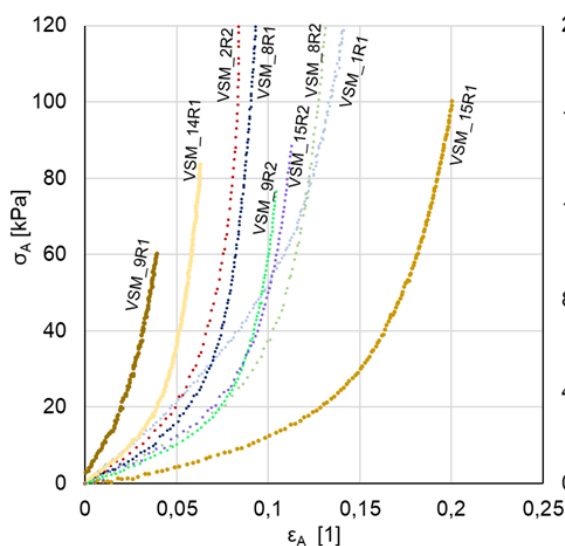


Obrázek 31: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u rychle rozmražených vzorků, první cyklus

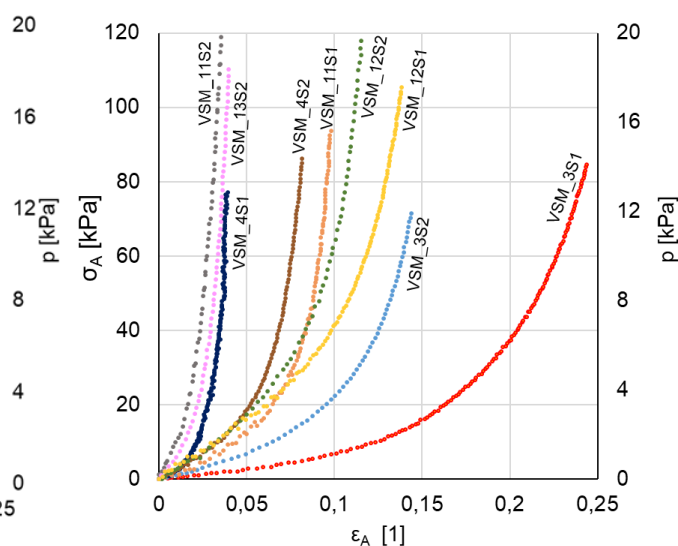


Obrázek 32: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u pomalu rozmražených vzorků, první cyklus

Závislosti napětí – deformace v axiálním směru pro osmý cyklus jsou prezentovány, viz Obrázek 33 a Obrázek 34. U rychle rozmražené skupiny vzorků se pohybují deformace v intervalu $\varepsilon_A = \langle 0,04; 0,2 \rangle$, viz Obrázek 33. Tj. oblast deformace zůstává takřka nezměněna, viz Obrázek 35 a Obrázek 36. Pro pomalu rozmraženou skupinu se deformace pohybují v intervalu $\varepsilon_A = \langle 0,03; 0,25 \rangle$, viz Obrázek 34.



Obrázek 33: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u rychle rozmražených vzorků, osmý cyklus

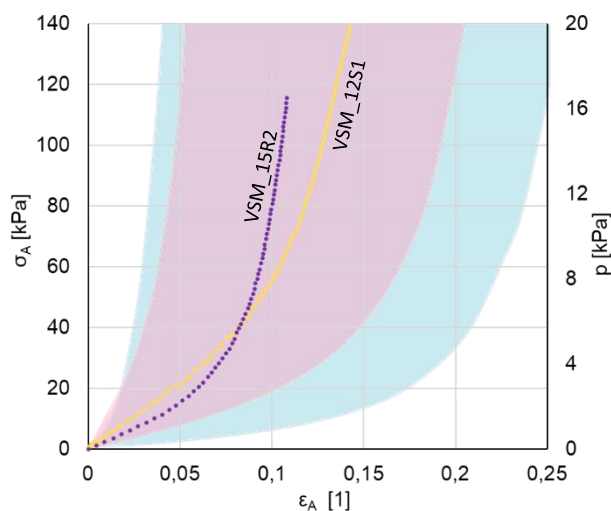


Obrázek 34: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u pomalu rozmražených vzorků, osmý cyklus

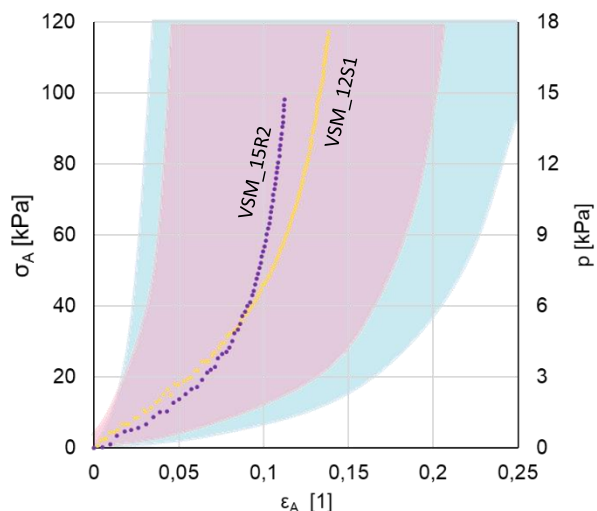
Byl vytvořen graf oblastí deformace pro axiální směr u prvního cyklu, viz Obrázek 35. Znovu byly vybrány reprezentativní vzorky. VSM_15R2 pro rychle rozmražené a VSM_12S1 pro pomalu rozmražené. Oblasti deformace pomalu rozmražených, vyznačená modře, zcela překrývá oblast rychle rozmražených, vyznačená červeně, viz Obrázek 35.

Obrázek 36 prezentuje graf pro osmý cyklus axiální deformace. Reprezentanti zůstávají stejní jako u prvního cyklu, viz Obrázek 35. Oblasti deformací se u rychle ani u pomalu rozmražených vzorků výrazně nezměnila, viz Obrázek 36.

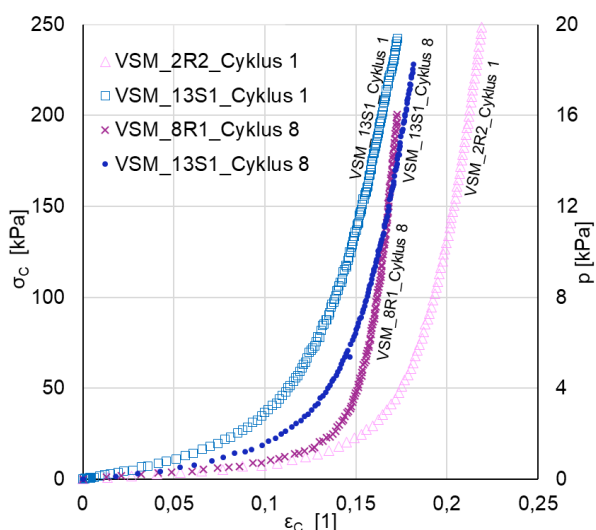
Křivky všech vybraných reprezentantů pro obvodovou deformaci jsou prezentovány ve společném grafu, viz Obrázek 37. Všechny čtyři křivky spadají do poměrně úzkého rozptýlu deformací $\varepsilon_C = \langle 0,17; 0,21 \rangle$, viz Obrázek 37. Obrázek 38 zobrazuje všechny reprezentanty pro axiální deformace. Tentokrát je oblast deformací, do které spadají všechny křivky, $\varepsilon_A = \langle 0,1; 0,15 \rangle$, viz Obrázek 38.



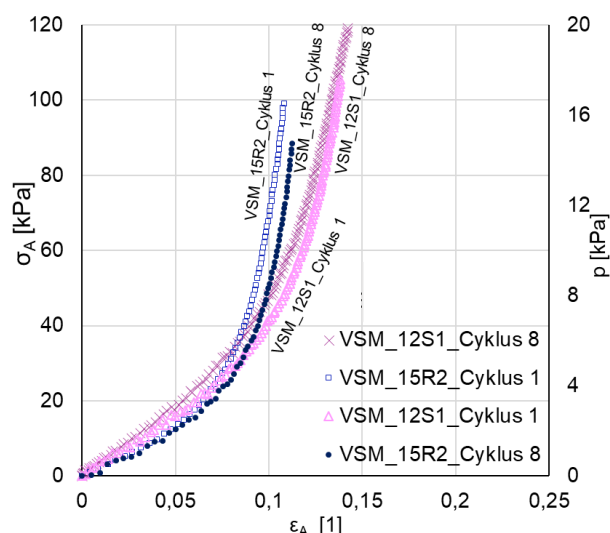
Obrázek 35: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_15R2, žlutě VSM_12S1, cyklus první



Obrázek 36: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_15R2, žlutě VSM_12S1, cyklus osmý



Obrázek 37: Reprezentanti pro obvodovou deformaci



Obrázek 38: Reprezentanti pro axiální deformaci

10.3. Vliv rychlosti rozmrazování na mechanickou odezvu cévy

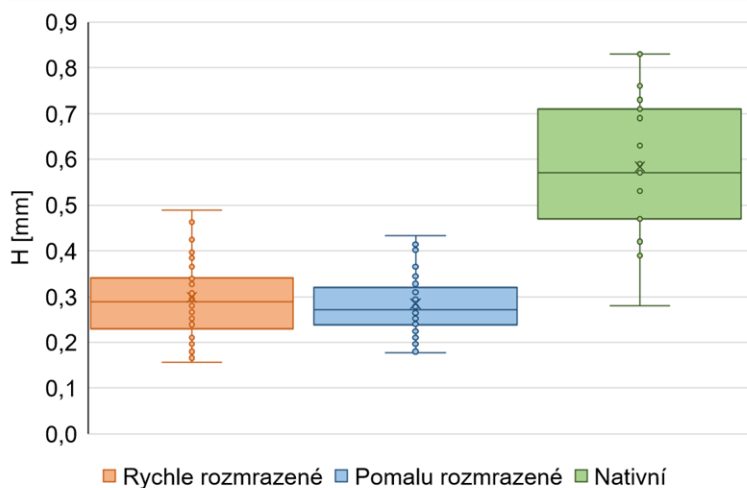
Oblast deformačního rozsahu projde u rychle rozmražených vzorků během experimentu výraznější změnou než u pomalu rozmražených. Oblast rychle rozmražených vzorků u prvního cyklu, viz Obrázek 29, je daleko užší, než tato oblast u osmého cyklu, viz Obrázek 30. Oblast se rozšiřuje směrem k menším deformacím. Deformace u pomalu rozmražených vzorků je u prvního a osmého cyklu podobná, viz Obrázek 29 a Obrázek 30. U deformací v axiálním směru u pomalu a rychle rozmražených vzorků se oblasti rozptýlu mechanických charakteristik příliš nemění, viz Obrázek 35 a Obrázek 36.

Z grafů, viz Obrázek 25–Obrázek 28, je patrné, že v nižších hodnotách napětí, tj. do 50 *kPa*, jsou pomalu rozmražené vzorky v obvodovém směru tužší než rychle rozmražené vzorky. To stejné lze vyčíst z grafu reprezentantů, viz Obrázek 37.

Je patrné, že oblast deformace je u pomalu rozmražené skupiny větší než u rychle rozmražených, viz Obrázek 35 a Obrázek 36. Oblast deformací u pomalu rozmražených zasahuje více do větších deformací – až k hodnotě deformace 0,25. Oblast u rychle rozmražených zasahuje do hodnoty deformace 0,2.

11. Diskuze

Ve studiích [16][21] a [22] byly změřeny tloušťky stěn nativních cévních štěpů z VSM. Tyto hodnoty byly použity pro doplnění krabicového grafu, viz Obrázek 23. Byl získán Obrázek 39, který prezentuje porovnání rychle rozmražených, pomalu rozmražených a nativních cévních štěpů.

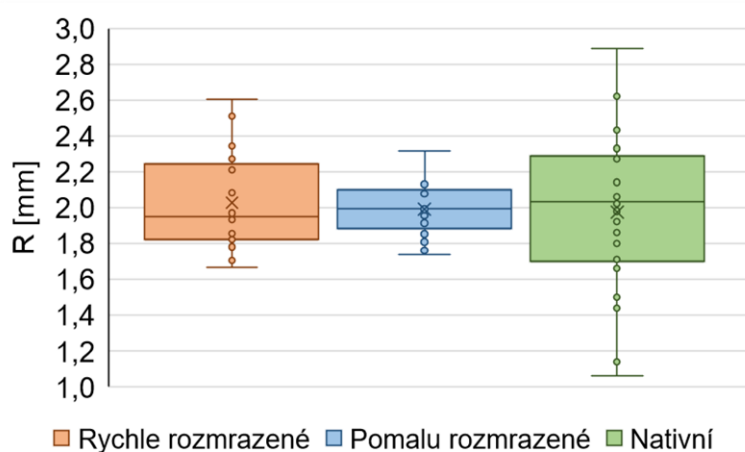


Obrázek 39: Tloušťky stěn VSM

Obrázek 39 prezentován, že 50 % hodnot tloušťky stěn u nativních cévních štěpů se pohybuje od 0,49 mm do 0,7 mm. Díky velkému rozptylu hodnot se objevují dlouhé fousky, které zasahují až do hodnot 0,3 mm a 0,83 mm. 50 % hodnot naměřených pro rozmražené štěpy se pohybuje od 0,2 mm do 0,35 mm a jejich rozptyl je menší. Pro obě skupiny rozmražených štěpů jsou rozptyly hodnot podobné. Pro tato měření byla provedena statistická analýza rozptylu dat pomocí ANOVA: jeden faktor. Hladina statistické významnosti $P=0,05$. Hodnota pravděpodobnosti byla $P=2,33 \cdot 10^{-27}$, viz Tabulka 6. Z toho vyplývá, že střední hodnoty tlouštěk nativních a rozmražených VSM jsou odlišné.

Hodnoty poloměrů nativních cévních štěpů byly převzaty z [16][21] a [22]. Pro porovnání středních hodnot poloměru pomalu rozmražených, rychle rozmražených a nativních cévních štěpů byl sestaven graf, viz Obrázek 40.

Z grafu, viz Obrázek 40, vidíme, že u nativních štěpů byl velký rozptyl hodnot od 1,1 mm do 2,9 mm. U rychle rozmražených 1,7 mm až 2,6 mm, u pomalu rozmražených je ještě menší od 1,75 mm do 2,3 mm. U námi testovaných vzorků je rozptyl výrazně menší, viz Obrázek 45. Pro ověření podobnosti průměrů pomalu a rychle rozmražených byla provedena ANOVA: jeden faktor s hladinou významnosti $P=0,05$. Parametr pravděpodobnosti P byl $P=0,63$, viz Tabulka 7. Z toho plyne, že průměry pomalu rozmražených jsou podobné jako u rychle rozmražených. Pro ověření podobnosti průměrů u nativních a kryoprezervovaných štěpů byla provedena ANOVA: jeden faktor s hladinou významnosti $P=0,05$. Parametr pravděpodobnosti byl $P=0,69$, viz Tabulka 8. Z něho lze usoudit, že hodnoty průměrů u nativních a kryoprezervovaných štěpů jsou velmi podobné.

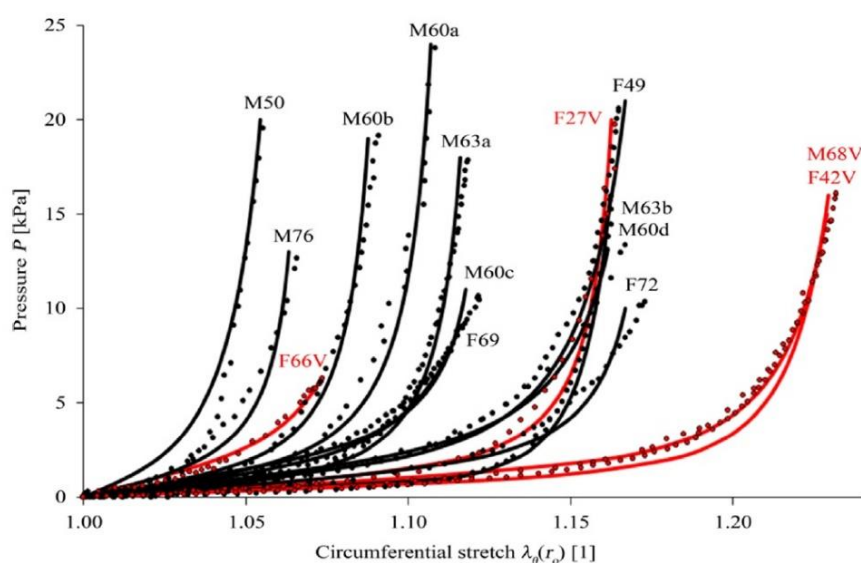


Obrázek 40: Porovnání poloměrů u 3 skupin vzorků

V [16] byl proveden inflační test na nativních cévních štěpech. Byl získán výsledný graf pro závislost tlaku na obvodovém stretchu, viz Obrázek 41. Stretch má rozsah od 1,05 do 1,25 při tlaku do 25 kPa. Pro převod na poměrné prodloužení využijeme vztah (14)

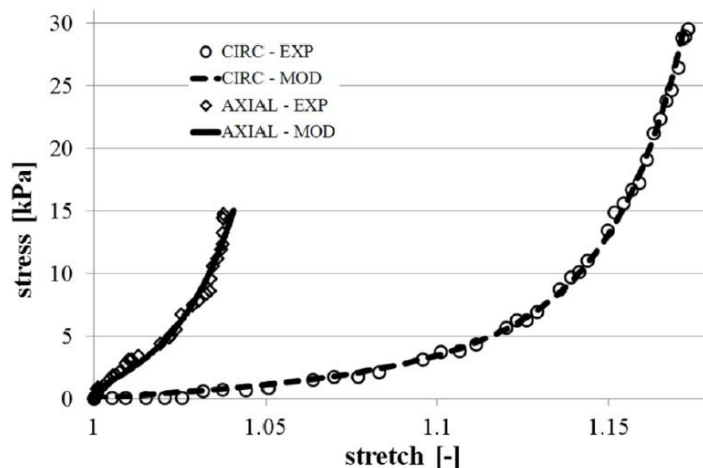
$$\lambda = \varepsilon + 1 \quad (14)$$

Hodnota deformace je tedy od 0,05 do 0,25.



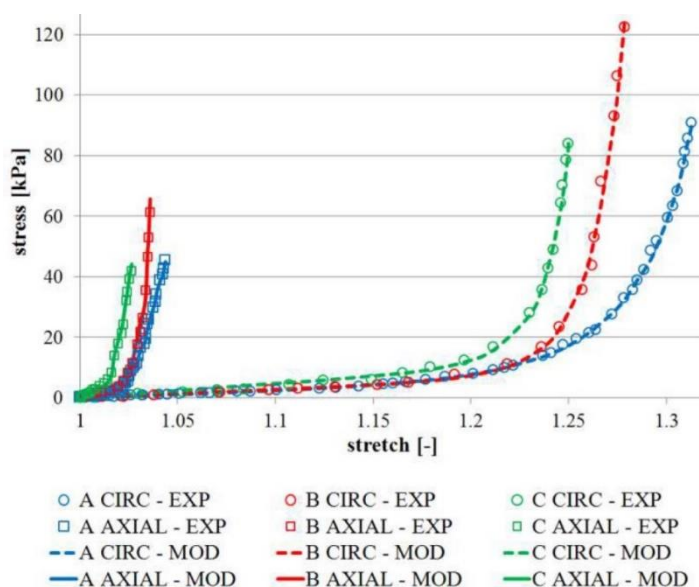
Obrázek 41: Závislost tlak –stretch v obvodovém směru pro nativní cévní štěpy [16]

Závislost napětí na sterchi pro nativní cévní štěpy byla změřena i v [19]. V grafu, viz Obrázek 43, jsou uvedeny 2 křivky. Jedna pro obvodový a jedna pro axiální směr. Obvodový stretch vzorku se pohybuje až do 1,15 při napětí do 30 kPa. Experimentální data byla proložena modelem HGO. Vidíme, že modelová křivka téměř přesně kopíruje naměřená data.



Obrázek 43: Závislost napětí-strech; CIRC=obvodová deformace, AXIAL=axiální deformace; EXP=experimentálně změřeno, MOD=matematicky namodelováno [19]

Další závislost napětí na strechu je prezentována v [20]. Obrázek 42 zobrazuje závislost napětí na deformaci VSM pro různé rychlosti zatěžování. A je nejnižší rychlost a C největší rychlost. Pro tuto práci je relevantní křivka rychlosti zatěžování A. V tomto grafu jsou uvedeny závislosti pro axiální i obvodový směr dohromady.



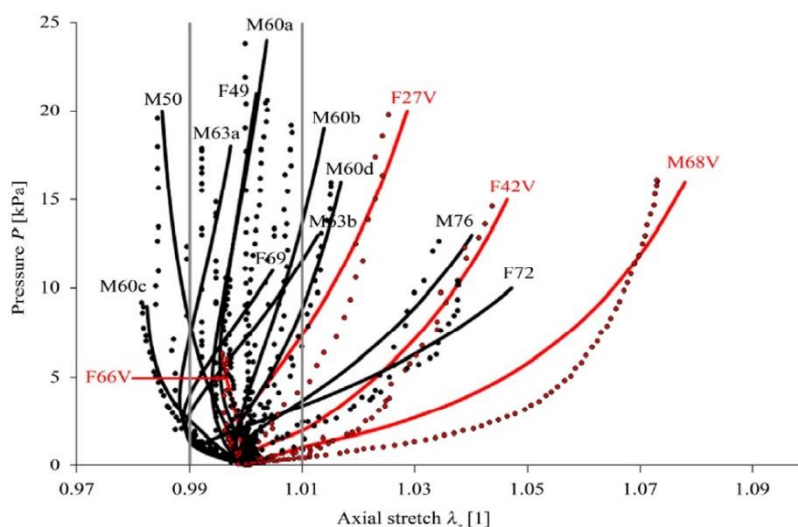
Obrázek 42: Závislost napětí – strech; A, B, C = rychlost zatěžování, CIRC=obvodový směr, AXIAL=axiální směr, EXP=experimentálně změřeno, MOD=matematicky namodelováno [20]

V grafu, viz Obrázek 42, vidíme, že obvodový stretch sahá k hodnotám 1,3 při napětí do 100 kPa.

Pro pomalu rozmražené vzorky byla změřena napětí na obvodové deformaci, viz Obrázek 28. Vidíme, že deformace dosahuje hodnot $\epsilon = \langle 0,05; 0,25 \rangle$ při napětích do 250 kPa. Pro rychle rozmražené vzorky je uvedena tato závislost v grafu, viz Obrázek 27. Zde je obvodová deformace v intervalu $\epsilon = \langle 0,1; 0,25 \rangle$ při napětích do 250 kPa.

Obvodové deformace pro kryoprezervované i nativní cévní štěpy dosahuje podobných hodnot. Pohybují se od jednotek až do desítek procent.

Pro axiální směr byla změřena závislost tlak-strech v [16]. Graf, viz Obrázek 44, ukazuje tuto závislost pro více vzorků.



Obrázek 44: Závislost stretch – tlak pro axiální směr [16]

Vidíme, že vzorky se v axiálním směru nedeformují jednoznačně. Je patrné, že některé vzorky se zkracují, některé prodlužují a některé se takřka nedeformují. Deformace v záporném směru (zkrácení) dosahuje hodnot maximálně do 0,02. Deformace v kladném směru (prodloužení) potom hodnot do 0,04, výjimečně až 0,07, kdy se jednalo o varikózní žílu. Hodnoty axiální deformace jsou tedy takřka o řád menší než obvodové deformace.

Vzorek, u kterého byla obvodová deformace mírně přes 0,15, nedosahuje axiální deformace ani 0,05 v kladném směru, viz Obrázek 43.

Obrázek 42 ukazuje, že axiální deformace jsou mnohem menší než obvodové. U vzorku se pohybuje obvodová deformace 0,3. Jeho axiální deformace se ale pohybuje jen kolem hodnoty 0,03.

Axiální závislost změřená pro pomalu rozmražené vzorky je uvedena v grafu, viz Obrázek 34. Vidíme, že deformace dosahuje od 0,04 do 0,25 pro napětí do 120 kPa. Vzorky se vždy protahovaly. Pro rychle rozmražené vzorky je uvedena závislost v grafu, viz Obrázek 33. Vzorky se rovněž vždy protahovaly. Oblast deformace dosahovala od 0,04 do 0,2 při napětích do 120 kPa.

Obvodová deformace kryoprezervovaných štěpů se pohybuje do hodnot 0,25 u pomalu i rychle rozmražené skupiny, viz Obrázek 30. U nativních cévních štěpů dosahuje hodnot podobných, a sice kolem 0,15 až 0,3, viz Obrázek 41, Obrázek 43 a Obrázek 42. Lze soudit, že kryogenní skladování nemá vliv na mechanické vlastnosti v obvodovém směru.

Axiální deformace rozmražených štěpů se pohybuje až do hodnot 0,2, a to jak u pomalu, tak i u rychle rozmražených, viz Obrázek 36. U nativních štěpů dosahuje

deformace maximálně do hodnoty 0,05 v kladném směru a do 0,02 v záporném směru, viz Obrázek 43 - Obrázek 44. Lze tedy soudit, že kryogenní skladování a následné rozmražení má vliv na mechanické vlastnosti v axiálním směru.

V obvodovém směru se při nižších hodnotách napětí vzorky chovají méně lineárně než v axiálním směru, viz Obrázek 25-Obrázek 38 a Obrázek 41–Obrázek 44, tj. vzorky jsou při hodnotách napětí do cca 50 *kPa* v obvodovém směru více poddajné než ve směru axiálním. Nad hodnotami napětí $\sigma=80$ *kPa* jsou směrnice charakteristik v obvodovém i axiálním směru podobné. To platí jak pro kryoprezervované, tak nativní štěpy.

12. Závěr

Kryoprezervované cévní štěpy se využívají v klinické praxi od roku 2011. Jedná se tedy o poměrně novou záležitost. Tyto štěpy se využívají pro pacienty s urgentním zdravotním kardiologickým problémem, kteří si nemohou dovolit čekat na čerstvý štěp a u kterých není možné použít umělou cévní náhradu. Například u pacientů po infarktu myokardu.

Vzhledem k tomu, že se kryoprezervované štěpy používají teprve 8 let, je vhodné rozšířit studie o mechanických vlastnostech štěpů po rozmrazení. Práce se zabývá vlivem skladování, resp. zda kryogenní skladování ovlivňuje mechanické vlastnosti cév. Dále se práce soustředí na vliv rychlosti samotného rozmrazení a porovnává mezi sebou 2 skupiny vzorků. První skupina byla rozmrazena standartním způsobem tj. 120 min. Druhá skupina byla rozmrazena rychleji, tj. 5 min. Každá skupina obsahovala 12 vzorků. Celkem bylo testováno 24 vzorků rozmražených štěpů.

Na těchto vzorcích byly provedeny inflačně-extenzní testy bez axiálního předpětí. Během cyklického zatěžování vnitřním tlakem byly deformace vzorku snímány dvěma navzájem na sebe kolmými videoextenzometry. Obvodové a axiální deformace byly získány analýzou obrazu z videoextenzometrů. Byly vyhodnocovány ztěžující fáze prvního a osmého cyklu.

Po provedení a vyhodnocení experimentů byly sestrojeny závislosti napětí na deformaci jak v obvodovém, tak v axiálním směru. Napětí bylo spočteno pomocí teorie válcových skořepin.

Práce analyzuje vliv rychlosti rozmrazení kryoprezervovaných cévních štěpů a cyklického zatěžování na jejich mechanické vlastnosti. Bylo zjištěno, že u rychle rozmražené skupiny se velikost oblasti obvodové deformace u prvního a osmého cyklu liší více než u pomalu rozmražených, viz Obrázek 29 a Obrázek 30. V axiálním směru zůstávají oblasti axiální deformace pro rychle i pomalu rozmraženou skupinu podobné, viz Obrázek 35 a Obrázek 36.

Dále je analyzován vliv skladování na mechaniku odezvu cévních štěpů. Geometrie i mechanické vlastnosti kryoprezervovaných cévních štěpů jsou porovnávány s nativními. Tloušťky stěn se u nativních a kryoprezervovaných štěpů liší, zatímco poloměry jsou podobné, viz Obrázek 39 a Obrázek 40 a Tabulka 6 a Tabulka 8. Obvodová deformace se pohybuje u kryoprezervovaných i nativních štěpů v podobném rozmezí, viz Obrázek 30 a Obrázek 41-Obrázek 42. U axiální deformace jsou ale pozorovány velké rozdíly. Nativní štěpy se buď zkracují, nebo se roztahují zhruba kolem deformace 0,02, viz Obrázek 43-Obrázek 44. Kryoprezervované štěpy se ale vždy protahují. Jejich deformace v axiálním směru dosahuje hodnot až 0,25, viz Obrázek 36. U kryogenně skladovaných cévních štěpů jsou obvodové a axiální deformace velmi podobné.

Bylo zjištěno, že hodnoty deformací u rychle rozmražené skupiny dosahují velmi podobných hodnot jako u pomalu rozmražené skupiny. Obvodová deformace rychle rozmražených štěpů projde během cyklického zatěžování výraznější změnou než u pomalu rozmražených.

Vzorky nebyly testovány s axiálním předpětím. Ve fyziologickém stavu ale cévy předeptaty jsou. Pro další výzkum by bylo třeba zajistit předpjetí. Dále by bylo vhodné otestovat jeden vzorek jako nativní i kryoprezervovaný, aby se zjistilo, jak přesně ovlivňuje skladování mechanické vlastnosti. Pro jednoznačnější závěry by bylo vhodné rozšířit počet zkoumaných vzorků.

Literatura

- [1] KONVIČKOVÁ, Svatava a Jaroslav VALENTA. Biomechanika srdečně cévního systému člověka. Vyd. 2. Praha: Česká technika – nakladatelství ČVUT, 1997. ISBN 80-01-03425-9
- [2] DYLEVSKÝ, Ivan. Základy funkční anatomie člověka. V Praze: České vysoké učení technické, 2013. ISBN 978-80-01-05249-5
- [3] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory. Praha: Grada, 2008. Psyché (Grada). ISBN 978-80-247-1521-6
- [4] ČAPEK, Lukáš, Petr HÁJEK a Petr HENYŠ. Biomechanika člověka. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0367-6
- [5] VIKLICKÝ, Ondřej, Libor JANOUŠEK a Peter BALÁŽ. Transplantace ledviny v klinické praxi. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2455-3
- [6] MICHALEC, Jiří. Pružnost a pevnost I. 3. vyd. V Praze: České vysoké učení technické, 2009. ISBN 978-80-01-04224-3
- [7] Špaček, M., Měřička, P., Janoušek, L. et al. Organization model for allotransplantations of cryopreserved vascular grafts in Czech Republic (2018) 19: 437. <https://doi.org/10.1007/s10561-018-9691-4>
- [8] Špacek, M.; Měřička, P.; Janoušek, L.; Štádl, P.; Adamec, M.; et al.: Current vascular allograft procurement, cryopreservation and transplantation techniques in the Czech Republic. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 28. 10.17219/acem/90037
- [9] Česká transplantční společnost | Zásady chirurgické techniky multiorgánového odběru orgánů. [online]. Copyright © 2015 ČTS [cit. 15.03.2019]. Dostupné z: https://transplant.cz/intranet/?page_id=1284
- [10] Hydroxyethyl Starch – DrugBank. DrugBank [online]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB09106>
- [11] Co je kapalný dusík a k čemu se používá? Je možné ho vyrobit doma? - Zeptejte se přírodovědci | Přírodovědci.cz. Úvod | Přírodovědci.cz [online]. Copyright © 2013, Prirodovedci.cz jsou komunikačním projektem [cit. 20.3.2019]. Dostupné z: <https://www.prirodovedci.cz/zeptejte-se-prirodovedcu/228>
- [12] Cévy – WikiSkripta. [online]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/C%C3%A9vy>
- [13] Arterie – WikiSkripta. [online]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/Arterie>
- [14] Vény – WikiSkripta. [online]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/V%C3%A9ny>
- [15] Krevní tlak – Wikipedie. [online]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Krevn%C3%AD_tlak
- [16] Veselý, J., Horný, L., Chlup, H., Adámek, T., Krajíček, M., & Žitný, R. Constitutive modeling of human saphenous veins at overloading pressures. *Journal of*

the mechanical behavior of biomedical materials. 2015, vol. 45, p. 101-8 ISSN 1751-6161

- [17] Intimální hyperplazie – WikiSkripta. [online]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Intim%C3%A1ln%C3%AD_hyperplazie
- [18] A.I. Arroyave G., R.G. Lima, P.A.L.S. Martins, N. Ramião, R.M.N. Jorge, Methodology for Mechanical Characterization of Soft Biological Tissues: Arteries, Procedia Engineering, Volume 110, 2015, Pages 74-81, ISSN 1877-7058, <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2015.07.012>
- [19] Veselý J, Hadraba D, Chlup H, Horný L, Adamek T, Zitny R (2014) Constitutive Modelling and Histology of Vena Saphena. Applied Mechanics and Materials 486:249-254
- [20] Veselý, J., Horný, L., Chlup, H., & Žitný, R. (2014). Inflation tests of vena saphena magna for different loading rates. IFMBE Proceedings, 41, 1041-1044. DOI: 10.1007/978-3-319-00846-2_258
- [21] J. Veselý, L. Horný, H. Chlup, T. Adánek, M. Krajíček, R. Žitný, Constitutive modeling of human saphenous veins at overloading pressures, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, Volume 45, 2015, Pages 101-108, ISSN 1751-6161
- [22] Špaček M, Chlup H, Mitáš P, Veselý J, Lambert L, Mlček M, et al.. Three-layer collagen-based vascular graft designed for low-flow peripheral vascular reconstructions. J Appl Biomed. 2019;17(1):52. doi: 10.32725/jab.2019.002
- [23] NAVRÁTIL, Leoš. Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0210-5
- [24] Srdečně-cévní nemoci, SZÚ. SZÚ [online]. Copyright © 2007 [cit. 17.03.2019]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/srdecne-cevni-nemoci>

Seznam obrázků

Obrázek 1: Stavba stěny arterie svalového typu [12]	11
Obrázek 2: Srovnání tloušťky jednotlivých vrstev stěny u artérie a vény [12] Upraveno	14
Obrázek 3: Schéma cévy s vyobrazeným souřadným systémem	14
Obrázek 4: Závislost napětí – deformace pro tepny při jednoosé tlakové zkoušce [1] ..	15
Obrázek 5: <i>Intimální hyperplazie</i> [17]	16
Obrázek 6: Nekonečně malý element vyjmutý z membrány. [6]	18
Obrázek 7: Silové účinky působící na vyjmutý element [6].....	19
Obrázek 8: Koncová část skořepiny [6] Upraveno	19
Obrázek 9: Schematické vyznačení míst řezu na cévě	21
Obrázek 10: Vytknuté kroužky	22
Obrázek 11: Rozvinuté kroužky	22
Obrázek 12: Schéma experimentu; vzorek s markery (1), horní trn – pevný (2), spodní trn – pohyblivý (3), pulsátor (4), trubice (5), senzor tlaku (6), stojan (7), videoextenzometry (kamery) (8a,b), světla (9a,b), synchrobox pro videoextenzometry (10), počítač pro řízení kamer (11), počítač pro řízení elektromotoru (12), sběrnice-A/D převodník (13), triggerovací tlačítko (14)	22
Obrázek 13: Reálné umístění PC na řízení elektromotoru a kamer; synchrobox pro videoextenzometry (10), PC pro řízení kamer (11), PC pro řízení elektromotoru (12), A/Dpřevodník (13), triggerovací tlačítko (14).....	23
Obrázek 14: Uspořádání experimentu; pulsátor (4), hadice (5), elektromotor (7), videoextenzometry (8a,b), světla (9a,b)	23
Obrázek 15: Upnutí vzorku s umístěním markerů; vzorek (1), horní trn – pevný (2), dolní trn – pohyblivý (3), snímač tlaku (6)	24
Obrázek 16: Tekuté markery na počátku testování	24
Obrázek 17: Tekuté markery na konci testování	24
Obrázek 18: Referenční snímek s měřítkem	25
Obrázek 19: Vzorek s vyznačenými ROI	25
Obrázek 20: Vlevo: naprahování pro obvodový směr s detekovanými hranami – červeně; Vpravo: naprahování pro axiální deformace s detekovanými hranami – zelené	26
Obrázek 21: Schematické zobrazení cyklování	26
Obrázek 22: Tloušťky stěny jednotlivých vzorků	27
Obrázek 23: Porovnání tloušťky stěny pro pomalu a rychle rozmražené skupiny vzorků	27
Obrázek 24: Střední hodnoty poloměrů a směrodatných odchylek jednotlivých vzorků	28
Obrázek 25: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u rychle rozmražených vzorků u prvního cyklu	29
Obrázek 26: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u pomalu rozmražených vzorků u prvního cyklu	29
Obrázek 27: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u rychle rozmražených vzorků u osmého cyklu	29
Obrázek 28: Závislost napětí – deformace pro obvodový směr u pomalu rozmražených vzorků u osmého cyklu	29
Obrázek 29: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_13S1 červeně: VSM_2R2, cyklus první.....	30

Obrázek 30: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_13S1 modře: VSM_8R1, cyklus osmý.....	30
Obrázek 31: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u rychle rozmražených vzorků, první cyklus.....	30
Obrázek 32: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u pomalu rozmražených vzorků, první cyklus	30
Obrázek 33: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u rychle rozmražených vzorků, osmý cyklus	31
Obrázek 34: Závislost napětí – deformace pro axiální směr u pomalu rozmražených vzorků, osmý cyklus	31
Obrázek 35: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_15R2, žlutě VSM_12S1, cyklus první	32
Obrázek 36: Oblasti deformace, červeně: rychle rozmražené, modře: pomalu rozmražené; reprezentanti: fialově VSM_15R2, žlutě VSM_12S1, cyklus osmý	32
Obrázek 37: Reprezentanti pro obvodovou deformaci	32
Obrázek 38: Reprezentanti pro axiální deformaci	32
Obrázek 39: Tloušťky stěn VSM.....	34
Obrázek 40: Porovnání poloměrů u 3 skupin vzorků	35
Obrázek 41: Závislost tlak –strech v obvodovém směru pro nativní cévní štěpy [16]...	35
Obrázek 42: Závislost napětí – strech; A, B, C = rychlost zatěžování, CIRC=obvodový směr, AXIAL=axiální směr, EXP=experimentálně změřeno, MOD=matematicky namodelováno[20]	36
Obrázek 43: Závislost napětí-strech; CIRC=obvodová deformace, AXIAL=axiální deformace; EXP=experimentálně změřeno, MOD=matematicky namodelováno [19]..	36
Obrázek 44: Závislost stretch – tlak pro axiální směr [16].....	37
Obrázek 45: Porovnání poloměrů u rychle a pomalu rozmražených štěpů	I

Seznam tabulek

Tabulka 1: Vnější průměry u vybraných tepen [1]	12
Tabulka 2: Meze pevnosti kyčelní tepny v axiálním směru R_{m1} a obvodovém směru R_{m2} pro různé věkové kategorie. [1]	15
Tabulka 3: Základní geometrie, věk a pohlaví dárců	20
Tabulka 4: Hodnoty tloušťky stěny pro jednotlivé vzorky	27
Tabulka 5: ANOVA pro tloušťky stěny pomalu a rychle rozmražených vzorků	I
Tabulka 6: ANOVA pro porovnání tlouštěk kryoprezervovaných štěpů a tlouštěk nativních štěpů	I
Tabulka 7: ANOVA pro porovnání průměrů u pomalu a rychle rozmražené skupiny	I
Tabulka 8: ANOVA pro porovnání poloměrů u kryoprezervovaných a nativních cévních štěpů	I

Přílohy

Anova: jeden faktor

Faktor				
Výběr	Počet	Součet	Průměr	Rozptyl
Sloupec 1	57	16,98	0,297895	0,006682
Sloupec 2	50	14,226	0,28452	0,004478

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	Hodnota P	F krit
Mezi výběry	0,004765	1	0,004765	0,842788	0,360705	3,931556
Všechny výběry	0,593612	105	0,005653			

Celkem 0,598377 106

Tabulka 5: ANOVA pro tloušťky stěny pomalu a rychle rozmražených vzorků

Anova: jeden faktor

Faktor				
Výběr	Počet	Součet	Průměr	Rozptyl
Sloupec 1	23	13,42	0,583478	0,021306
Sloupec 2	107	31,206	0,291645	0,005645

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	Hodnota P	F krit
Mezi výběry	1,612272	1	1,612272	193,3944	2,33E-27	3,915138
Všechny výběry	1,067098	128	0,008337			

Celkem 2,67937 129

Tabulka 6: ANOVA pro porovnání tlouštěk kryoprezervovaných štěpů a tlouštěk nativních štěpů

Anova: jeden faktor

Faktor				
Výběr	Počet	Součet	Průměr	Rozptyl
Sloupec 1	20	40,54472	2,027236	0,076128
Sloupec 2	17	33,84748	1,991028	0,0227

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	Hodnota P	F krit
Mezi výběry	0,012047	1	0,012047	0,233001	0,632312848	4,121338
Všechny výběry	1,809631	35	0,051704			

Celkem 1,821678 36

Tabulka 7: ANOVA pro porovnání průměrů u pomalu a rychle rozmražené skupiny

Anova: jeden faktor

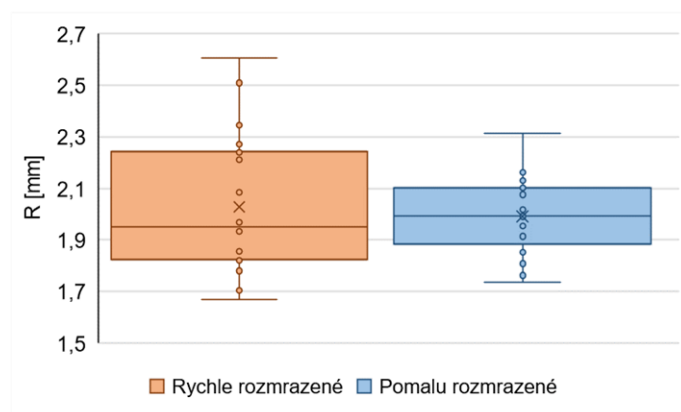
Faktor

Výběr	Počet	Součet	Průměr	Rozptyl
Sloupec 1	22	43,46	1,975455	0,198188
Sloupec 2	37	74,3922	2,0106	0,050602

ANOVA

Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	Hodnota P	F krit
Mezi výběry	0,017042	1	0,017042	0,162339	0,688519127	4,009868
Všechny výběry	5,983624	57	0,104976			
Celkem	6,000665	58				

Tabulka 8: ANOVA pro porovnání poloměrů u kryoprezervovaných a nativních cévních štěpů



Obrázek 45: Porovnání poloměrů u rychle a pomalu rozmražených štěpů